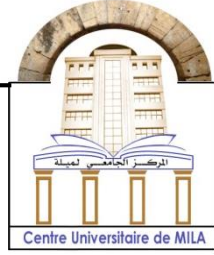


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref :.....

**Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila**

**Institut des Sciences et de la Technologie**

**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de**

**Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Biochimie**

**Spécialité : Biochimie appliqué**

**Thème :**

***Effet correctif des champignons comestible  
(Ganoderma lucidum ) contre les effets  
nocifs des solvants( Benzène )***

**Présenté par :**

- Tolhi Hawa
- Belilet Racha
- Hadjkhllouf Imene

**Devant le jury :**

<b>Dr. Benserradj Ouafa</b>	<b>MCA</b>	<b>Présidente</b>
<b>Dr. Bouhali Imed Eddine</b>	<b>MCB</b>	<b>Examineur</b>
<b>Dr. Bendjadou Mouna</b>	<b>MCB</b>	<b>Promotrice</b>

**Année Universitaire : 2022/2023**

*« Sans la curiosité de l'esprit, que serions-nous ? Telle est bien la beauté et la noblesse de la science : désir sans fin de repousser les frontières du savoir, de traquer les secrets de la matière et de la vie sans idée préconçue des conséquences éventuelles. »*

***Marie Curie***

## ***Remerciements***

Tout d'abord, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné le courage et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Nous exprimons nos profondes gratitude et reconnaissances à notre encadrante madame Bendjedou Mouna pour nous avoir proposé et accepté de diriger avec beaucoup de patience ce sujet de mémoire de fin d'études. Nous la remercions pour tous les conseils, l'aide et surtout le temps qu'elle nous a donné.

Nous souhaitons présenter également nos vifs remerciements à :

Madame Benserradj Ouafa pour avoir accepté de présider ce jury.

Et monsieur Bouhali Imed Eddine pour avoir accepté de juger et examiner ce modeste travail.

Sans oublier bien sur toute l'équipe de laboratoire pour sa patience et son aide.

Nous remercions également nos familles et nos proches pour tout le soutien et le support qu'il nous a donné.

***Dédicace***

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers

A mon très cher père

Toute l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers un être très cher. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont vous avez fait preuve, de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester, j'espère que vous y trouverez les fruits de votre semence et le témoignage de ma grande fierté de vous avoir comme père. J'implore Dieu, tout puissant, de vous accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur.

A ma très chère mère

Aucune dédicace très chère maman, ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Vous avez guetté mes pas, et m'avez couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Vous m'avez aidé et soutenu pendant de nombreuses années avec à chaque fois une attention renouvelée. Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

A ma chère sœur Roumaïssa qui m'a quittée tôt je vous dédie mon diplôme et mon succès .

A mes chères sœurs Rim et Rihab et Amel et Nour el Houda et à mon cher et mon ange Sief El Islem pour leur tendresse et leur encouragement.

A mon ami Ahmed Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve, Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu. Je te dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur, Je prie Dieu le tout puissant d'exaucer tous nos rêves.

A tous mes amis Chahinaz et Djouhaina et chamse et Romaïssa qui m'ont aidée par leur soutien moral.

A mon binôme Hawa et Imane

*Racha*

## *Dédicace*

Merci Allah "mon dieu" de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience  
d'aller jusqu'au bout du rêve.

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers

A mon très cher père

Papa Mon meilleur ami et mon plus grand soutien qui m'a quitté si tôt je t'aime plus que tout papa.

A ma très chère mère

Je dédie ce travail a maman la sœur ,l'amie la plus proche, la fille, la toute pour moi,

la seule qui me connaisse mieux que personne, qui a toujours été là pour moi celle

qui a sacrifié le monde pour me voir sourire.

Mes deux frères abd raouf et adem Ma force dans la vie et mes armures de

protection merci d'être toujours mes héros je vous aime très fort.

Ma sœur Afaf qui m'a encouragé dans tout mon parcours d'études.

mes tantes amel,karima ,leila,bouchra ,rima . Mes oncles Mohamed Yacine et abd

elkarim. mes cousins et cousines Oussama, Mohamed Amine,khawla,aya .

mes meilleures amis dina et chahinaz, youssra,malia,fatima .

A mon binôme racha et imane .

A Mes collègues Ali , Omar , Samir , Amir et le professeur Mademe Bouarodje qui m'on aidée

dans notre mémoire .

*Hawa*

## *Dédicace*

Je dédié ce travail a

Avant Tous ; Merci Dieu le tout miséricordieux ,ton amour et tes  
graces à mon égard m'ont donné la persévérance et le courage pour accomplir ce travail.

Je dédie ce modeste travail :

- A Mes très chers parents.

- A Mon cher mari Nour Eddine et ma fille Assil , Qui m'a aidé et supporté dans les moments  
difficiles

-A toute la famille de mon cher mari et spécialement ; Ibtissem ,Raouia

A Mes Meilleurs Amies ; Amira , cherifa , Manel Pour leur indéfectibles outiens et leurs patiences infinies

A Tout la famille

-A Mes collègues ; Racha et Hawa

Je Tiens à remercier tout particulièrement Mon encadreuse

M.Bendjedou ; pour sa confiance, son soutien, son attention, ses

bons conseils, son encouragements, sa disponibilité toute la période de réalisation de cette  
mémoire.

- Je Remercie particulièrement l'équipe de laboratoire de l'hopital Houari

Boumediene spécialement ; Dr. Djerida

Nous Remercions également l'ensemble des enseignants département science de nature et de la  
vie spécialement ; M.Boucherit.H , Mr Kellab.R,

*Imene*

## *Sommaire*

Remerciment	
Dédicace	
Sommaire	
Listes des tableaux	
Listes des figure	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Introduction .....	01

### *Chapitre I : Partie bibliographie*

I.1. Le benzène .....	04
I.1.1. Définition .....	04
I.1.2. Structure .....	04
I.1.3. Propriétés physico-chimiques .....	04
I.1.4. Utilisation .....	06
I.1.5. Devenir dans l'environnement .....	07
I.1.6. Toxicocinétique .....	07
I.1.7. Toxicité .....	11
I.1.7.1. Toxicité aiguë .....	11
I.1.7.2. Toxicité chronique .....	11
I.1.8. Effet cancérogène .....	12
I.1.9. Effet sur la reproduction .....	12
I.1.10. Effet sur le développement .....	12
I.2. Ganoderma lucidum .....	13
I.2.1. Définition .....	13
I.2.2. Classification botanique .....	13
I.2.3. Historique .....	14
I.2.4. Description botanique .....	14
I.1.5. Composition chimique .....	15
I.1.6. Utilisation et bienfaits .....	16

I.2.6.1. Usage alimentaire .....	16
I.2.6.2. Usage médicinaux .....	16
I.2.7. Toxicité .....	17

## ***Chapitre II : Matériels et méthode***

II.1. Matériels biologiques .....	18
II.1.1. Matériels animales .....	18
II.1.1.2. Matériel végétale .....	18
II.1.2. Matériels chimique .....	19
II.1.3. La réparation des animaux .....	19
II.2. Méthode .....	20
II.2.1. Protocole expérimentale .....	20
II.2.2 Préparation de prélèvement .....	22
II.2.2.1. Prélèvement du sang ... ..	22
II.2.2.2. Prélèvement des organes.....	25
II.2.3. Dosage des paramètres biochimiques .....	25
II.2.3.1. Dosage du glucose .....	25
II.2.3.2. Dosage du cholestérol .....	27
II.2.3.3. Dosage des triglycérides .....	29
II.2.3.4. Dosages des paramètres hématologiques .....	30
II.2.4. Etude histologique.....	30
1. Fixation .....	31
2. Déshydratation .....	31
3. Inclusion .....	32
4. Réalisation des blocs .....	32
5. Confection des coupes .....	33
6. Coloration .....	34
II.2.5. Etude hormonale .....	35
II.2.6. Traitement statistique des résultats .....	38

## ***Chapitre III : Résultats***

III.1. Etat pondérale des organes .....	40
III.1.1. Foie .....	40



III.1.2. Testicules .....	41
III.1.3. Epididyme .....	42
III.2. Etude des paramètres biochimiques .....	43
III.2.1. Triglycérides .....	43
III.2.2. Cholestérol .....	44
III.2.3. Glucose .....	45
III.3. Etude de reproduction .....	46
III.3.1. Taux de testostérone .....	46
III.4. Etude des paramètres hématologiques .....	47
III.4.1. Globule blanc .....	47
III.4.2. Globule rouge .....	48
III.4.3. Hémoglobine .....	49
III.5. Etude histologique .....	50
III.5.1. Atteinte tissulaire au niveau du foie .....	50

### ***Chapitre IV : Discussion***

IV.1. Discussion .....	51
Conclusion et perspective .....	55
Références bibliographiques .....	56

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Propriétés physiques de benzène .....	05
<b>Tableau 02</b> : quelques propriétés chimiques du benzène .....	05
<b>Tableau 03</b> : Classification systématique du Ganoderma lucidum .....	14
<b>Tableau 04</b> : la répartition et le traitement des lapins .....	22
<b>Tableau 05</b> : Variation du poids du foie chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII(n=5) .....	40
<b>Tableau 06</b> : Variation du poids du testicule chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII(n=5). .....	41
<b>Tableau 07</b> : Variation du poids de l'épididyme chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5). .....	42
<b>Tableau 08</b> : Variation de la concentration de triglycérides chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5). .....	43
<b>Tableau 09</b> : variation de la concentration de cholestérol chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5) .....	44
<b>Tableau 10</b> : variation du taux de glucose chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5) .....	45
<b>Tableau 11</b> : variation de taux de la testostérone chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5). .....	46
<b>Tableau 12</b> : Variation de taux des globules blancs chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5). .....	47
<b>Tableau 13</b> : Variation de taux des globules rouges chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5). .....	48
<b>Tableau 14</b> : Variation de taux de l'hémoglobine chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5) .....	49

## *Liste des figures*

<b>Figure 01</b> : Molécule de benzène .....	04
<b>Figure 02</b> : Produits fabriquées par le benzène.....	06
<b>Figure 03</b> : Métabolisme du benzène, issu d'ATSDR. ....	10
<b>Figure 04</b> : Reishi champignon.....	13
<b>Figure 05</b> : Reishi sous formes poudre.....	15
<b>Figure 06</b> : Un lapin .....	18
<b>Figure 07</b> : Ganoderma lucidum (photo personnelle) .....	18
<b>Figure 08</b> : Flacon du Benzène .....	19
<b>Figure 09</b> : Animalerie du centre universitaire MILA .....	19
<b>Figure 10</b> : La pesée de lapins.....	20
<b>Figure 11</b> : Matériels de dilution .....	20
<b>Figure 12</b> : La préparation de reishi.....	21
<b>Figure 13</b> : Lapin (DII) injecté par le benzène et traité par le reishi .....	21
<b>Figure 14</b> : Sacrifice du lapin.....	22
<b>Figure 15</b> : Prélèvement du sang.....	23
<b>Figure 16</b> : Centrifuges.....	23
<b>Figure 17</b> : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.....	24
<b>Figure 18</b> : Prélèvement des organes.....	25
<b>Figure 19</b> : Automate de déshydratation STP 120.....	32
<b>Figure 20</b> : La pièce à couper immergées dans de la paraffine.....	32
<b>Figure 21</b> : Appareil de l'étuve.....	32
<b>Figure 22</b> : Station .....	33
<b>Figure 23</b> : Bloque.....	33
<b>Figure 24</b> : Microtome .....	34
<b>Figure 25</b> : Plaque chauffante.....	34
<b>Figure 26</b> : Coloration des coupes histologique .....	35

<b>Figure 27</b> : Observation des coupes histologique avec le microscope ( $\times 40$ ) .....	35
<b>Figure 28</b> : variation de moyenne (X SD) du poids (P) du fois chez le lot témoin et le lot traités. ....	40
<b>Figure 29</b> : Variation moyenne (X SD) du poids (P) de testicule chez le lot témoin et le lot traités. ....	41
<b>Figure 30</b> : variation moyenne (X SD) du poids (P)de l'épididyme chez le lot témoin et le lot traités.....	42
<b>Figure 31</b> : Variation moyenne (X SD) de la concentration de triglycérides chez le lot témoin et le lot traités. ....	43
<b>Figure 32</b> : Variation moyenne (X SD) de la concentration de cholestérol chez le lot témoin et le lot traités. ....	44
<b>Figure 33</b> : Variation moyenne (X SD) du taux de glucose chez le lot témoin et les lots traités .....	45
<b>Figure 34</b> : Variation moyenne (X SD) de taux de la testostérone chez le lot témoin et le lot traités. ....	46
<b>Figure 35</b> : Variation moyenne (X SD) de taux des globules blancs chez le lot témoin et les Lots traités. ....	47
<b>Figure 36</b> : Variation moyenne (X SD) de taux des globules rouges chez le lot témoin et le lot traités. ....	48
<b>Figure 37</b> : Variation moyenne (X SD) de taux de l'hémoglobine chez le lot témoin et les lots traités. ....	49

## *Liste des abréviations*

**%** : Pourcentage.

**°C** : Degré selsius.

**COV** : Composé organique volatile .

**CYP2E1** : Cytochrome P-450 2E1.

Moyen .

**GB** : Globule Blanc.

**GR** : Globule Rouge.

**G** : gramme.

**HS** : Hautement significatif.

**HG** : Hémoglobine .

**Kg** : kilogramme .

**ml** : Millilitre.

**Mg** : Milligramme .

**m<sup>3</sup>** : mètre cube .

**Mol** : Mole .

**MPO** : myéloperoxydase .

**NS** : Non significative.

**Ppm** : Part Per Million.

**S** :Significative .

**THS** : Très Hautement significative .

**µg**: Microgramme .

**U** : Unité de Masse Atomique.

**VIH**: Virus de l'Immunodéficience Humain.

**T°** : Température .

## ***Résumé***

Il y'a souvent une perception du risque déformé rien qu'en entendant le nom d'une substance chimique ou synthétique utilisée lors de l'activité quotidienne de l'être humain contrairement au substances naturelles sous toute forme y compris le champignon le *Ganoderma lucidum* ( le Reishi) qui a marqué un énorme avantage et des bienfaits sur la santé humaine qui ont été prouvés par la recherche scientifique en raison de sa grande importance et ses multiples utilisations dans le cosmétiques et dans la médecine.

Le présent travail concerne l'étude de l'effet correcteur des champignons comestibles contre les effets nocifs des solvants sur quelques paramètres biochimiques et hématologiques et aussi quelques paramètres de reproduction chez des lapins albinos de l'espèce *Cuniculus lepus*. Pour cette raison, nous avons choisi le benzène, un solvant organique largement utilisé dans divers domaines tels que la fabrication de peinture. Imprimerie, industrie pharmaceutique, industrie médicale.

Les lapins ont été répartis en trois groupes, le premier groupe ne reçoit rien c'est le groupe témoin, le second groupe a été traité uniquement au benzène, et le dernier groupe traité au benzène plus le Reishi. Le l'administration du traitement ce fait chaque jours pendant 4 semaines successives.

Dans notre expérience nous avons étudié : les poids des organes comme le foie, l'épididyme et le testicule, ainsi l'étude des paramètres biochimiques et hématologiques et une étude hormonale et histologique.

Nos résultats indiquent des changements très clairs : variation significatives dans le poids des organes étudiés, les paramètres biochimiques on connut une augmentation hautement significative de taux de triglycéride et de cholestérol et une diminution très hautement significative du taux de glucose) et une variation dans les paramètres hématologiques qui se traduit par une augmentation hautement significative du GB et une diminution hautement significative de GR et hémoglobine,) une diminution hautement significative du taux de la testostérone, toutes ces modifications sont dues à l'effet néfaste du benzène. D'autre part ces paramètres ont subi une légère correction dans leurs valeurs en raison de l'effet correctif de *Ganoderma lucidum*.

**Mots clés** : solvants, phytothérapie, toxicologie, benzène, *Ganoderma lucidum* (le Reishi) .

## ***ABSTRACT***

There is often a distorted perception of risk just by hearing the name of a chemical or synthetic substance used in daily human activity unlike natural substances in any form including the fungus *Ganoderma lucidum* (Reishi) which has marked a huge advantage and benefits on human health that have been proven by scientific research due to its great importance and multiple uses in cosmetics and medicine.

This work concerns the study of the corrective effect of edible mushrooms against the harmful effects of solvents on some biochemical and hematological parameters and some reproduction parameters in albino rabbits of the species *Cuniculus lepus*. For this reason, we have chosen benzene, which is an organic solvent widely used in various fields such as paint manufacturing, Printing, pharmaceutical industry, medical industry.

The rabbits were divided into three groups, the first group receives nothing is the control group, the second group was treated only with benzene, and the last group treated with benzene plus Reishi. The administration of the treatment is done every day for 4 successive weeks.

In our experience, we have studied: the weights of organs such as the liver, epididymis and testis, as well as the study of biochemical and hematological and a hormonal and histological study.

Our results indicate very clear changes: significant variation in the weight of the organs studied, the biochemical parameters (a highly significant increase in triglyceride and cholesterol levels and a very highly significant decrease in glucose levels) and a variation in the parameters hematological which results in a highly significant increase in WBC and an equally significant decrease in GR and hemoglobin,) a highly significant decrease in testosterone levels, all these changes are due to the harmful effect of benzene. On the other hand these parameters underwent a slight correction in their values due to the corrective effect of *Ganoderma lucidum*.

**Key words:** solvents, herbal medicine, toxicological, benzene, *Ganoderma lucidum*

## المخلص

غالبا ما يكون هناك تصور مشوه للمخاطر بمجرد سماع كلمة اسم مادة كيميائية او اصطناعية مستخدمة في النشاط البشري اليومي على عكس المواد الطبيعية بأي شكل من الاشكال بما في ذلك فطر غانوديرما لوسيدوم ( ريشي) الذي تميز بمزايا و فوائد كبيرة على صحة الانسان والتي تم اثباته من خلال البحث العلمي لما له من اهمية كبيرة واستخدامات متعددة في مستحضرات التجميل و الطب .

يتعلق هذا العمل بدراسة التأثير التصحيحي للفطر الصالح للأكل ضد التأثيرات الضارة للمذيبات على بعض المتغيرات البيو كيميائية والدمية وكذلك بعض معاملات التكاثر في الارانب البيضاء من نوع *cuniculus lepus* لهذا السبب اخترنا البنزين وهو مذيب عضوي يستخدم على نطاق واسع في مختلف المجالات مثل صناعة الطلاء ، الطباعة ، صناعة الادوية ، الصناعة الطبية .

تم تقسيم الارانب الى ثلاث مجموعات المجموعة الاولى لا تتلقى أي شيء هي المجموعة الضابطة المجموعة الثانية عولجت بالبنزين فقط والمجموعة الاخيرة عولجت بالبنزين و الريشي تتم ادارة العلاج كل يوم لمدة 4 اسابيع متتالية. في تجربتنا قمنا بدراسة : اوزان الاعضاء مثل الكبد و البربخ و الخصية و كذلك دراسة المعلومات البيو كيميائية والدموية والدراسة الهرمونية و النسيجية .

تشير نتائجنا إلى تغيرات واضحة للغاية تباين كبير في وزن الاعضاء المدروسة والمعابير الكيميائية الحيوية (زيادة كبيرة في مستويات الدهون الثلاثية و الكوليسترول وانخفاض كبير للغاية في مستويات الجلوكوز ).وتباين في المعلمات الدموية مما يؤدي إلى زيادة ملحوظة في كريات الدم البيضاء و انخفاض معنوي بنفس القدر في كريات الدم الحمراء و الهيموجلوبين ، وكذلك انخفاض كبير في مستويات هرمون التستوستيرون كل هذه التغيرات ناتجة عن التأثير الضار للبنزين. من ناحية اخرى خضعت هذه المعابير لتصحيح طفيف في قيمها بسبب التأثير التصحيحي لغانوديرما لوسيديوم

**الكلمات المفتاحية:** المذيبات, الأدوية العشبية, السمية, البنزين, الجانوديرما لوسيدوم





# ***INTRODUCTION***

## **Introduction**

Les solvants sont, en fait, une série de produits chimiques différents, dont les principales caractéristiques techniques sont une forte solubilité associée à une volatilité généralement élevée. Ces propriétés en font un outil incontournable dans la plupart des secteurs industriels, sans parler de l'industrie chimique. En raison de leur volatilité, les vapeurs de solvants sont présentes à des concentrations plus ou moins élevées dans de nombreux lieux de travail, et de nombreux travailleurs sont exposés principalement par les voies respiratoires et occasionnellement par la peau. Le nombre de travailleurs exposés augmente, notamment dans l'industrie et la construction. [1].

Les solvants organiques sont nocifs pour la santé. Ils appartiennent à un grand groupe de composés organiques volatils (COV). Les COV peuvent affecter la santé humaine. Il existe des effets chroniques associés à une exposition à faible dose à long terme ainsi que des effets aigus associés à une exposition à forte dose à court terme. B. Effets cancérigènes ou toxiques sur la reproduction et le développement des mâles. Leur présence dans l'atmosphère peut déclencher des réactions chimiques conduisant à la formation ou à l'accumulation d'autres composés nocifs comme l'ozone dans l'environnement. Il est donc essentiel d'étudier ces substances et d'évaluer leurs risques pour la santé des personnes [2].

Le benzène est l'un de ces COV est un hydrocarbure aromatique de formule chimique  $C_6H_6$  C'est un composé organique volatile, claire et incolore, caractérisé par une structure moléculaire en forme d'anneau hexagonal. Il est utilisé dans certaines industries pour fabriquer des plastiques, des résines et d'autres produits chimiques utilisés pour fabriquer des fibres synthétiques et de nylon. Il est également utilisé pour fabriquer certains types de caoutchouc, des lubrifiants, des colorants, des détergents, des produits pharmaceutiques et des pesticides [3].

Le benzène est classé comme cancérigène pour l'homme par de nombreuses agences de réglementation, notamment l'Agence internationale de recherche sur le cancer (CICR) [4]. L'exposition prolongée au benzène peut entraîner divers problèmes de santé, tels que des troubles hématologiques, des maladies du système nerveux et des cancers [5].

La phytothérapie par les champignons médicinaux, Les champignons médicinaux ont des effets pharmacologiques et thérapeutiques telles que : antioxydants, antibactériennes, anti-inflammatoires, immun modulateur, antidiabétiques, hépato-protecteur, anticancéreuses, antiallergiques, antihyperlipidémiques, prébiotiques, etc... [6].

Le “Ganoderma” Lucidum (aussi nommé Reishi ou LingZh) est l'une des espèces de plantes médicinales les plus importantes au monde. Il pousse dans les régions subtropicales et tempérées d'Europe, d'Asie, d'Afrique et des Amériques

En médecine traditionnelle chinoise, G. lucidum est utilisé à des fins thérapeutiques et préventives depuis des milliers d'années. Contient différents composés bioactifs (polysaccharides, des triterpénoïdes, des protéines...) [7].

Le travail se vent comme buts étude des effets du benzène sur certains paramètres biochimiques (globules blancs, globules rouges, cholestérols, triglycérides) et l'effet de benzène sur quelques organes (foie, épидидyme, testicules) et sur la fertilité (hormone testostérone), grâce à trois types d'études : étude sérologique, étude biochimique et étude histologique , et à étudier les effets correcteurs du Ganoderma lucidum à des bases scientifiques pour justifier leur usage en médecine traditionnelle.

Notre travail sera présenté sous forme de quatre (04) chapitres :

- **Le premier chapitre** est consacré à une synthèse bibliographique partagée en deux grandes parties, la première illustre sur le benzène, dans la deuxième partie tout ce qui concerne le champignon médicinale (Ganoderma lucidum).
- **Le deuxième chapitre** est consacré au travail expérimental proprement dit : matériel et méthode.
- **Le troisième chapitre** contient les résultats.
- **Le quatrième et le dernier chapitre** renferme la discussion et une conclusion et les perspectives.



***Chapitre I :***  
***Partie bibliographie***

## I.1. Le benzène

### I.1.1. Définition

Le benzène est un composé organique de formule brute  $C_6H_6$ , Il appartient à la famille des hydrocarbures aromatiques monocycliques [3].

Le benzène est un liquide incolore ayant à odeur douceâtre. Il s'évapore très rapidement dans l'air et facilement soluble dans l'eau. Il est très combustible, sa formation est le résultat de procédés naturels et d'activités humaines. [8].

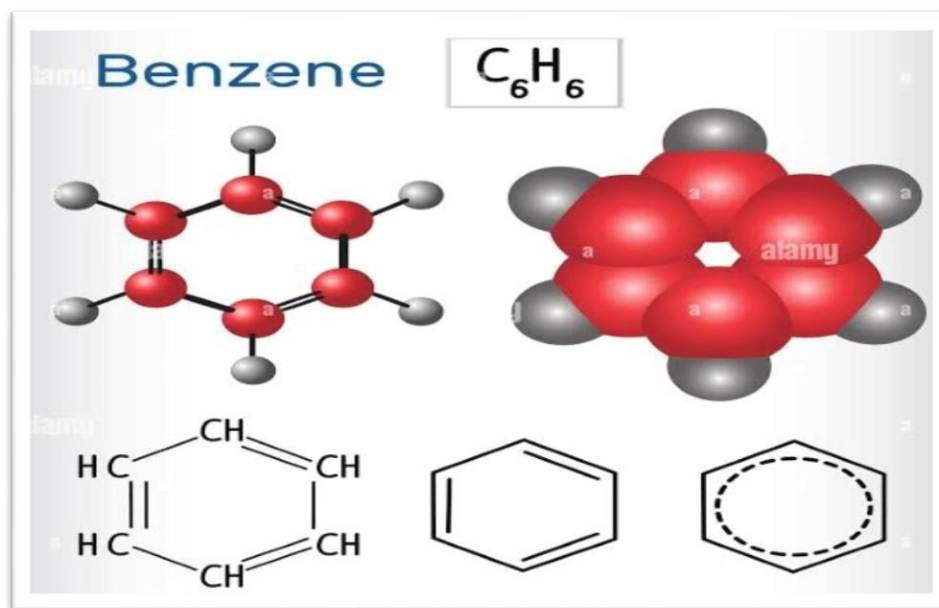


Figure 01 : Molécule de benzène

### I.1.2. Structure

- Le cycle benzénique est un hexagone régulier. 6 atomes d'hydrogène.
- Les six liaisons C-C sont de même longueur. Il est de 139 pm et sa longueur est intermédiaire entre les liaisons simples (154 pm) et les doubles liaisons (134 pm) [9].

### I.1.3. Propriétés physico-chimiques

#### a. Propriétés physiques

Le benzène est un liquide incolore avec un indice de réfraction proche de 1,50 (presque un composé organique polaire, mais légèrement soluble dans l'eau. Il a une odeur douce et vitreuse). Sa viscosité est inférieure à celle de l'eau. Il est très soluble dans les solvants avec des seuils de détection entre 1,5 et 900 mg-m<sup>3</sup> d'air [9].

**Tableau 01 : Propriétés physiques de benzène**

<b>T° Fusion</b>	<b>5.5°C</b>
<b>T° ébullition</b>	<b>80 .01°C</b>
<b>Solubilité</b>	<b>Dans l'eau à 25°C : 1.79g .L-1</b>
<b>Masse volumique</b>	<b>0.8787 g.cm-1 à 45 °C</b>
<b>T° D'auto inflammation</b>	<b>498°C</b>
<b>Point d'éclair</b>	<b>-11°C</b>
<b>Viscosité dynamique</b>	<b>0.65 mPa.s a 20</b>
<b>Tension superficielle</b>	<b>28.88 × 10 -3 N.m -1 à 25 °C</b>
<b>Point critique</b>	<b>288.9 °C / 48.6 atm</b>

**b. Propriétés chimiques****Tableau 02 : quelques propriétés chimiques du benzène :**

<b>Formuler brute</b>	<b>C6H5</b>
<b>Masse molaire</b>	<b>78 .1118g/mol</b>
<b>PKa</b>	<b>43</b>
<b>Diamètre moléculaire</b>	<b>0.526nm</b>

Le benzène est stable à température ambiante. Cependant, il réagit (substitution, addition, scission de cycle) avec de nombreux composés et constitue une matière première importante en synthèse organique. Dans le cas du benzène, les réactions de substitution sont le plus souvent réalisées de manière industrielle. Le benzène peut réagir violemment avec les oxydants forts et les acides forts. Un mélange d'acide nitrique et d'acide sulfonique provoque la formation de nitrobenzène explosif. L'acide sulfurique concentré produit de l'acide benzène sulfonique, qui est hautement inflammable mais hautement corrosif. Ces réactions sont exothermiques [10].

### I.1.4. Utilisation

Le benzène est utilisé dans :

- **Chimie organique :** Le benzène est utilisé dans la fabrication de nombreux produits chimiques, principalement l'éthylbenzène (50 % du benzène utilisé), le cumène (issu du phénol 21 %), le cyclohexane (13 %) (Commission européenne, 2002), Le nitrobenzène, le nitrophénol, l'alkylbenzène, anhydride maléique, chlorobenzène. Ces produits créent une large gamme de produits couramment disponibles, notamment des polymères et des caoutchoucs, des détergents, des parfums, des colorants, des additifs alimentaires, des solvants, des pesticides, des explosifs, des plastifiants et des produits pharmaceutiques. En pharmacie, le benzène est encore utilisé comme solvant et réactif pour certains produits.
- **Carburant :** Le benzène est utilisé comme additif dans l'essence sans plomb à des concentrations inférieures à 1 %.
- **Industrie cosmétique :** Le benzène peut être utilisé comme solvant d'extraction dans l'industrie de la parfumerie.
- **Laboratoire :** Le benzène est utilisé comme solvant et réactif de laboratoire en très petites quantités.
- **Utilisation comme solvant dans l'industrie :** Cette utilisation semble limitée à des applications très spécifiques (extractions spécifiques). Le benzène peut être trouvé dans les solvants et les diluants, dans les produits nettoyage /dégraissage, les peintures [11].

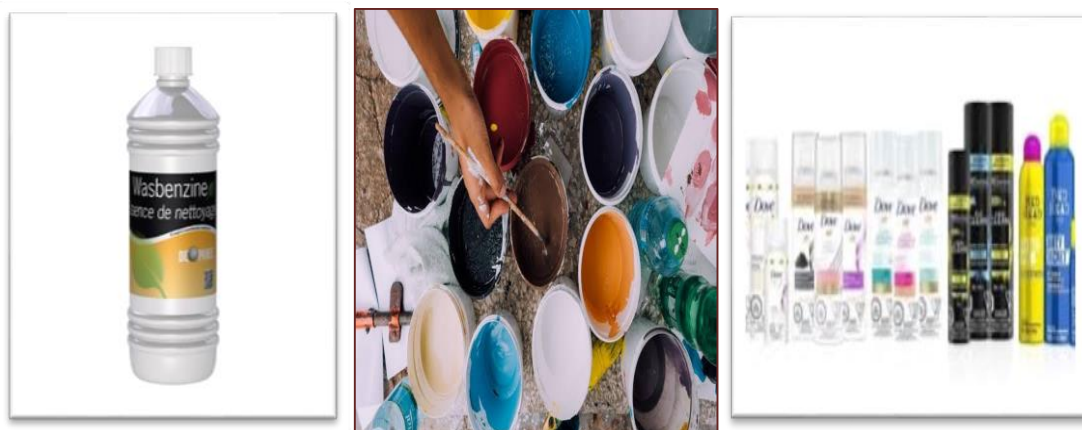


Figure 02 : Produits fabriquées par le benzène

### I.1.5. Devenir dans l'environnement

Les procédés industriels sont la principale source de benzène dans l'environnement, le benzène peut être libéré dans l'atmosphère à partir de l'eau et du sol, il réagit avec d'autres produits chimiques dans l'air et se décompose en quelques jours.

Le benzène dans l'air peut lier la pluie et la neige et être réintroduit dans le sol, se décompose plus lentement dans l'eau et le sol et peut se déplacer à travers le sol jusqu'aux eaux souterraines et ne s'accumule pas dans les plantes ou les animaux [8].

### I.1.6. Toxicocinétique

Bien que l'on pense que le benzène est rapidement absorbé par le tractus gastro-intestinal, environ 50 % du benzène inhalé est absorbé par les poumons et seule une petite quantité pénètre dans l'organisme par la peau. [12].

Une fois absorbé, le benzène est distribué dans tout l'organisme et peut s'accumuler dans le tissu adipeux. Le benzène est métabolisé principalement dans le foie, mais une partie est également métabolisée dans la moelle osseuse. Bien que les mécanismes du métabolisme du benzène semblent qualitativement similaires chez l'homme et les animaux de laboratoire, il peut y avoir des différences quantitatives dans la proportion de métabolites potentiellement toxiques entre les espèces.

Les voies métaboliques impliquées dans la formation de métabolites potentiellement toxiques (Benz quinone et hexa-2,4-diènedial) semblent être des processus saturables à relativement faible dose. De ce fait, la proportion de métabolites toxiques formés est plus importante à faible dose qu'à forte dose. [13].

La plupart des métabolites du benzène sont excrétés dans l'urine, mais le benzène non métabolisé est excrété dans l'air expiré. À mesure que l'apport en benzène augmente, une plus grande proportion est exhalée sans traitement et non excrétée sous forme de métabolites dans l'urine.

#### A. Absorption

Le benzène pénètre dans l'organisme par plusieurs voies :

- a) **Voie pulmonaire** : C'est la principale voie de pénétration dans l'organisme. L'inhalation de vapeur dépend de la ventilation pulmonaire et de la volatilité du benzène.



- b) **Voie cutanée** : Le contact cutané direct avec le benzène par trempage ou lavage des mains ou des vêtements est envisagé. Bien que la peau soit peu perméable et constitue généralement une barrière très efficace, certaines toxines comme le benzène sont bien absorbées par la peau et peuvent provoquer des effets systémiques [14].
- c) **Voie orale** : Cette voie est l'exception et n'affecte que l'ingestion accidentelle ou involontaire [15].

## B. Distribution

Le benzène absorbé est transporté dans le sang en se liant aux protéines plasmatiques et aux globules rouges. En raison de sa lipophilie, il se distribue rapidement aux organes riches en lipides : foie, système nerveux, moelle osseuse, glandes surrénales.

En cas d'intoxication massive, il est préférable de fixer B. aux centres nerveux. L'exposition chronique affecte principalement le foie [15].

## C. Métabolisme

Le métabolisme du benzène a été largement étudié, mais les processus conduisant à la toxicité du benzène ne sont pas entièrement compris. Les données sur le métabolisme humain proviennent principalement d'études sur l'inhalation. Qualitativement, le métabolisme et l'excrétion du benzène chez les humains et les animaux de laboratoire semblent être similaires. Le benzène est métabolisé principalement dans le foie, mais également dans d'autres tissus où le benzène est fixé, en particulier la moelle osseuse.

L'époxy benzène peut également former du benzène dihydrodiol via l'époxyde hydrolase, ce qui peut conduire à la formation de catéchol via la dihydrodiol déshydrogénase.

- **La première étape** : consiste en l'oxydation du benzène en époxy benzène et du benzène en oxépine (formation d'équilibre). Cette étape est catalysée par le CYP450 2E1 [16].
- **Deuxièmement** : plusieurs voies sont impliquées dans le métabolisme de l'époxy benzène.

La voie principale est un réarrangement non enzymatique qui conduit à la formation de phénol [17]. Le phénol est ensuite oxydé en présence de CYP450 2E1 en catéchol et en hydroquinone, qui sont oxydés via la myéloperoxydase (MPO) en 1,2- et 1,4-benzoquinone, respectivement [18].

Le catéchol et l'hydroquinone sont métabolisés en 1, 2,3-benzènetriol via le CYP450 2E1. L'époxy benzène peut également former du benzène dihydrodiol via l'époxyde hydrolase, qui peut conduire à la formation de catéchol grâce à la dihydrodiol déshydrogénase [18].

Les autres voies métaboliques de l'époxyde de benzène comprennent :

- + Réaction avec le glutathion pour former de l'acide S-phénylmercapturique [18].
- + Formation d'acide trans, trans-muconique via l'intermédiaire trans, trans-muconaldéhyde [18]. Les voies métaboliques impliquées dans la formation de métabolites

Potentiellement toxiques (Benz quinone et hexa-2,4-diènedial) représentent des processus de saturation à des doses relativement faibles [13].

Chaque métabolite phénolique du benzène (phénol, catéchol, hydroquinone, 1, 2,4-benzènetriol) peut être un glucuronide ou un sulfoconjugué. Ainsi, le phénol et l'hydroquinone sont ensemble les principaux métabolites du benzène retrouvés dans l'urine après une exposition à de fortes doses de benzène.

Le métabolisme du benzène dans la moelle osseuse est complet et indépendant du métabolisme hépatique (la concentration de phénol dans la moelle osseuse est supérieure à celle du catéchol et de l'hydroquinone). Les concentrations de métabolites dans la moelle osseuse dépassent celles dans le sang [13].

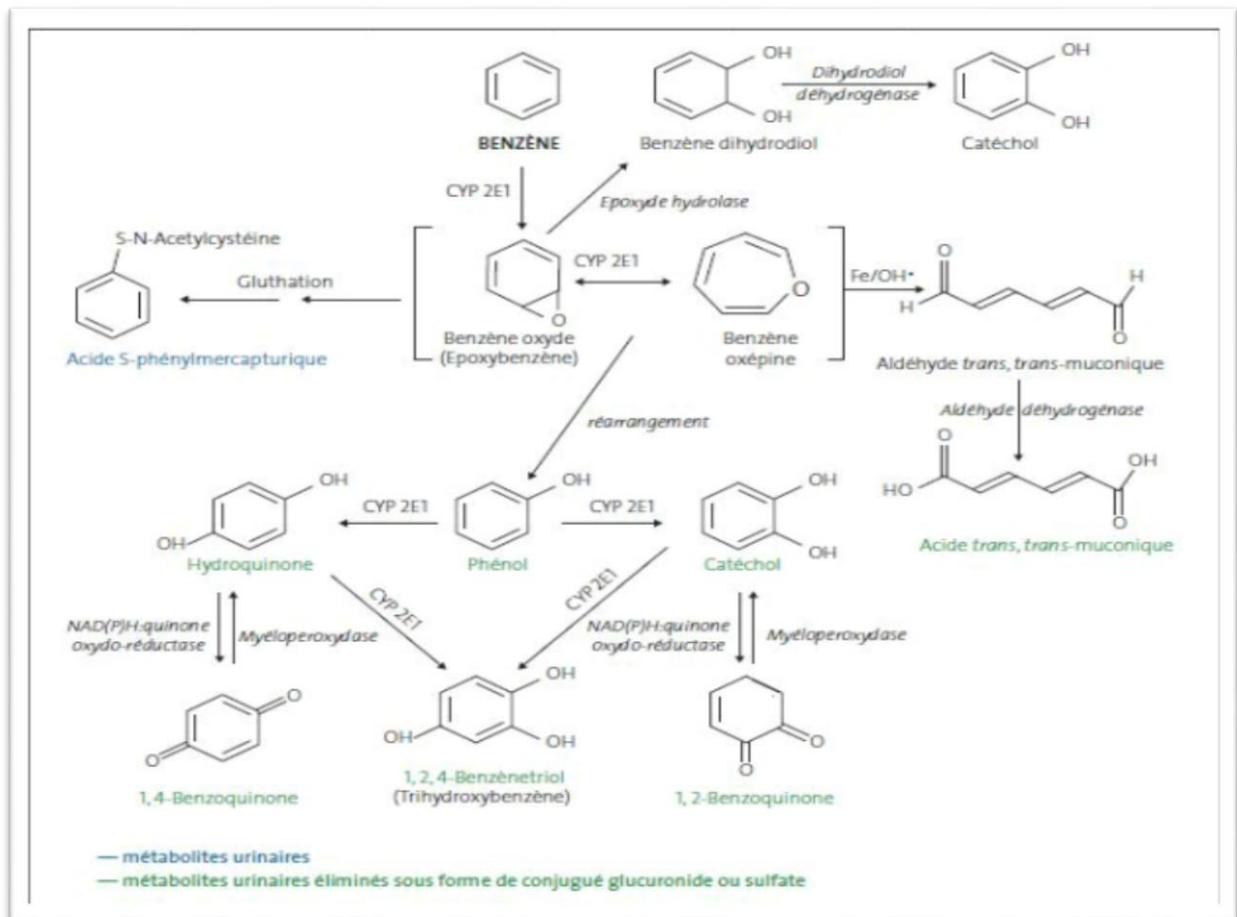


Figure 0 3 : Métabolisme du benzène, issu de ATSDR.

#### D. Elimination

Les substances toxiques sont excrétées par différentes voies, principalement par les reins et dans une moindre mesure par les poumons, sous forme conjuguée ou libre.

La majeure partie du benzène introduit dans l'organisme retransverse la barrière alvéolaire et est exhalée. La quantité ainsi excrétée varie entre 10 et 50 % en fonction de la concentration sanguine et de l'absorption. Avec une exposition relativement modérée et lente, l'élimination peut atteindre 20 à 30 %. Dure au moins 24 heures après la fin de l'exposition.

Une petite quantité de benzène est excrétée dans les urines sans être métabolisée (moins de 1 %) [19].

## I.1.7. Toxicité

### I.1.7.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë du benzène chez les animaux et les humains peut varier en fonction de la dose d'exposition et de la durée de cette exposition.

- **Chez les animaux** : une exposition aiguë au benzène peut entraîner divers effets toxiques. Les symptômes peuvent inclure une diminution de l'activité, des difficultés respiratoires, des convulsions, une perte de coordination, des lésions des organes internes et, dans les cas graves, la mort. Les effets peuvent varier selon l'espèce animale et la sensibilité individuelle [20].
- **Chez l'homme** : une exposition aiguë au benzène peut également avoir des effets néfastes sur la santé. Les symptômes courants de l'intoxication aiguë comprennent des maux de tête, des étourdissements, des nausées, des vomissements, une confusion mentale et des irritations cutanées. Des expositions plus graves peuvent entraîner une altération de la conscience, des convulsions [21].

### I.1.7.2. Toxicité chronique

- L'intoxication chronique se manifeste sur une longue période de temps, l'inhalation à long terme de petites quantités de benzène ne provoque pas des problèmes immédiats, mais entraîne des effets néfastes à long terme sur la santé [22].
- **Chez les animaux** : une exposition chronique au benzène peut entraîner une lymphopénie, leucopénie, anémie, diminution des lymphocytes B dans les tissus hématopoïétiques, diminution de l'activation des lymphocytes B et T, altération de la morphologie et de la cellularité de la moelle osseuse [23].
- **Chez l'homme** : La principale cible après une exposition à long terme au benzène est le système sanguin, avec la moelle osseuse, la déplétion des globules rouges, l'anémie ou, moins fréquemment, la polyglobulie (lignée des globules rouges), la leucopénie et parfois la hyperleucocytose (globules blancs). ), thrombopénie (plaquettes) [24].
- En plus des problèmes hématologiques et du risque de cancer, l'exposition chronique au benzène peut également provoquer des effets neurologiques, tels que des troubles cognitifs, des troubles du sommeil, des tremblements et des problèmes d'équilibre [25].

### I.1.8. Effet cancérogène

Le benzène est étroitement lié à plusieurs types de cancer, notamment la leucémie (cancer des cellules sanguines), les lymphomes (cancers du système lymphatique) et le cancer de la moelle osseuse [4].

### I.1.9. Effet sur la reproduction

- **Chez les animaux** : des études ont montré que l'exposition chronique au benzène peut entraîner une altération de la fonction reproductrice. Chez les mâles, cela peut se traduire par une diminution de la production de sperme, une altération de la qualité du sperme et chez les femelles une diminution de la fertilité [21].

Le benzène peut avoir des effets néfastes sur la reproduction chez les humains, lors d'une exposition prolongée et répétée.

- **Chez les humains** : certaines études épidémiologiques suggèrent également une association entre l'exposition chronique au benzène et des effets néfastes sur la reproduction.
  - ❖ **Chez les mâles** cela peut inclure une diminution de la qualité du sperme, une altération de la fonction testiculaire et une diminution de la fertilité [23].
  - ❖ **Chez les femelles**, l'exposition chronique au benzène peut entraîner des déséquilibres hormonaux, des anomalies du cycle menstruel et réduire la fécondité [26] , et des complications pendant la grossesse entraîner des avortements spontanés [27].

### I.10 Effet sur le développement

Le benzène peut également avoir des effets sur le développement des fœtus. Des études chez les animaux ont montré que l'exposition au benzène pendant la grossesse peut entraîner des malformations congénitales, des retards de croissance, des troubles du développement neurologique et des effets tératogènes [23]. Chez les humains, l'exposition chronique au benzène pendant la grossesse a été associée à un risque accru de fausses couches, de naissances prématurées, de retard de croissance intra-utérin et de malformations congénitales [27].

## I.2. Ganoderma lucidum

### I.2.1. Définition

Le Ganoderme luisant est un champignon basidiomycète de la famille des Ganodermataceae qui se forme par la pourriture blanche d'une grande variété d'arbres et qui a la plus longue histoire d'utilisation. Le Ganoderma lucidum est le champignon curatif le plus recherché, largement utilisé en Chine et au Japon depuis plus de 2000 ans pour la prévention d'un grand nombre de maladies. Ganoderma lucidum est dérivé des mots "Gano (grec) ou lucidus (latin) qui signifie brillant ou éclatant" et "derma (grec) qui signifie peau", ce qui fait référence à l'aspect lisse de la surface du champignon. Le nom chinois de Ganoderma lucidum se réfère à "Lingzhi" et "Reishi" ou, au Japon, à "Mannentake [28].



Figure 04 : Reishi champignon

### I.2.2. Classification botanique

G.lucidum se classe comme suit [29]:

**Tableau 03** : Classification systématique du *Ganoderma lucidum*

<b>Règne</b>	<b>Plante</b>
<b>Règne</b>	<b>Fungi</b>
<b>Division</b>	<b>Basidiomycota</b>
<b>Classe</b>	<b>Agaricomycetes</b>
<b>Ordre</b>	<b>Polyporales</b>
<b>Famille</b>	<b>Ganodermataceae</b>
<b>Genre</b>	<b>Ganoderma</b>
<b>Espèce</b>	<b>Ganoderma lucidum</b>

### I.2.3. Historique

Reishi" *Lucidum* (également connu sous le nom de Reishi ou Lingzhi) est le champignon de guérison le plus important.

Considéré comme le "roi" des champignons en Chine, il est utilisé par les herboristes chinois et japonais depuis plus de 4 000 ans. La première mention remonte à 2800 av. Dans une étude chinoise sur la phytothérapie.

Bien qu'il soit également répertorié dans la pharmacopée chinoise, on pense que ce champignon est connu en Chine depuis des milliers d'années [30].

### I.2.4. Description botanique

Le chapeau ressemble à un petit haricot de lampe sur le bout rougeâtre de son orteil. Se développer progressivement en forme de rein semi-circulaire surélevé, parfois de 10 à 20 cm de long. Il a une surface lisse et brillante et est de couleur rougeâtre, tendant parfois vers le violet. Il a un pied en bois, décentré et inégal de la même couleur que le chapeau, et un plastron en acajou et brillant de la même couleur que le chapeau. Sa surface fertile est plate et constituée de pores appelés tubes, blancs et rougeâtres au toucher, et ses spores sont brun clair. Le reste du champignon est recouvert d'une croûte laquée brun rougeâtre [31].

Il est consommé sous forme déshydratée ou sous, de gélules, de comprimés, sous forme de poudre ce type qui utilisé dans notre travail .



Figure 05 : Reishi sous formes poudre

### I.2.5. Composition chimique

Les propriétés biologiques les plus intéressantes du Reishi sont essentiellement dues à ses deux principes actifs principaux, Il est principalement composé de :

- **Polysaccharides** : glucanes, de galactanes et/ou d'autres hétéropolysaccharides composés de plusieurs monosaccharides tels que le glucose, le galactose, le mannose et le fructose. Les polysaccharides ont la capacité de renforcer le système immunitaire et d'agir comme anti-cancérigènes [32].
- **Triterpènes (GLT)** : les triterpénoïdes, y compris l'acide ganodérique, ont des effets hépato protecteurs, abaissant la pression artérielle et le taux de cholestérol sanguin. Ils ont des effets antihistaminiques, anticancéreux et anti-VIH.

Ils inhibent également l'angiogenèse et l'agrégation plaquettaire. L'acide ganodérique présente également une activité anti androgénique anti-inflammatoire et anticancéreuse.

Ont démontré des effets cytotoxiques de l'acide ganodérique sur les cellules cancéreuses de la prostate dépendantes des androgènes et les cellules cancéreuses du sein dépendantes des œstrogènes. Les triterpénoïdes ont des effets positifs sur la fonction cognitive et la mémoire [33].

**Il se compose également d'autres composants :**



- **Protéines** : Ce sont des macromolécules nécessaires à la survie des champignons. *G. lucidum* est considéré comme une riche source de protéines et de peptides et présente un grand intérêt thérapeutique et industriel. Plusieurs molécules extraites de ce champignon ont été purifiées, caractérisées et intégrées dans les industries médicales et agroalimentaires, On pense que la glycoprotéine LZ-8 est la première molécule de protéine isolée et a une structure et une fonction similaires aux immunoglobulines (Ig) et possède une chaîne lourde de type Ig , Les lectines sont une autre famille de protéines synthétisées par ce basidiomycète. Ils sont impliqués dans de nombreux processus biologiques importants, tels que la régulation de la croissance au cours des différentes étapes de la vie, comme le parasitisme et la communication avec d'autres types de cellules [34].
- **Alcaloïdes** : de *G. lucidum* sont des particules à faible concentration et peu d'études ont été réalisées. *Ganoderma lucidum* contient environ 30 alcaloïdes différents. Ceux-ci incluent les composés mono- et polycycliques, les purines, les pyrimidines et les cérébrosides. Il a des propriétés antioxydants et antiprolifératives [35].
- **Les composés phénoliques et flavonoïdes** : contenus dans les champignons constituent une réserve biologique, car ils sont riches en composés phénoliques et flavonoïdes [36].
- **Vitamines et en oligo-éléments** : Les champignons, connus pour être riches en vitamines et sels minéraux, ont attiré l'attention des nutritionnistes et des agronomes car ils facilitent la culture à grande échelle de ces champignons et leur intégration généralisée dans la production alimentaire pour une alimentation équilibrée [34].

## I.2.6. Utilisation et bienfaits

### I.2.6.1. Usage alimentaire

- Traditionnellement utilisé pour préparer une "soupe" en séchant, tranchant ou en coupant et en faisant bouillir dans de l'eau pour faire une "soupe".
- Contenue dans certains produits raffinés comme le miel et le chocolat contenant de l'extrait de reishi [37].
- Le reishi et consommé sous forme : tisane, thé, bière ...
- Utilisé aussi dans le yaourt et le café [38].

### I.2.6.2. Usage médicaux

- Le Reishi est utilisé pour lutter contre la fatigue, renforcer l'organisme en général, stimuler le système immunitaire et stopper la protéinurie.

- Traitement de l'asthme et des maladies respiratoires .
- Traitement des maladies du foie .
- Effets anti-allergiques par la présence de triterpénoïdes (acides ganodériques C et D)  
Inhibition de la libération d'histamine.
- Effets anticancéreux dus à la présence de polysaccharides et de triterpénoïdes (acide ganodérique T) dans les champignons. Affecte le système immunitaire, effets anti-inflammatoires, antioxydants et proapoptotiques.
- Activité anti cholestérol protectrice cardiovasculaire par les triterpénoïdes qui inhibent la synthèse du cholestérol.
- Effet hypoglycémiant dû à la présence de triterpénoïdes et de polysaccharides (ganoderans B et D) dans les champignons.
- Effets antihypertenseurs protecteurs cardiovasculaires.
- Effets antiviraux de divers polysaccharides, notamment contre le virus de l'herpès simplex.
- Effet sédatif par activation de la voie de signalisation GABAergique [39].

### **I.2.7. Toxicité**

Consommer du Reishi (*Ganoderma lucidum*) est considéré comme particulièrement bon pour la santé, Si des doses plus élevées peuvent provoquer des effets secondaires tels que :

- Sécheresse de la bouche et du nez.
- Démangeaisons.
- Diarrhée
- Saignements de nez,
- Déconseillé aux personnes ayant chirurgie récente ou imminente [40].
- Déconseillé chez la femme enceinte [30].
- Le reishi était la cause de la fatigue et des étourdissements [31].
- L'anorexie entraînant une hépato toxicité peut également entraîner un risque accru de saignement par des interactions avec des anticoagulants/antiplaquettaires.
- Le reishi peut également provoquer des ballonnements et des mictions fréquentes [41].



***Chapitre II :***  
***Matériels et méthode***

## Matériels et méthodes

### II .1. Matériels biologiques

#### II.1.1. Matériels animales

Les lapins utilisés dans notre étude étaient 15 lapins mâles sexuellement matures de plus de 4 mois avec un poids corporel moyen de 1,5-2,5 kg.



Figure 06 : Un lapin

#### II.1.1.2. Matériel végétale

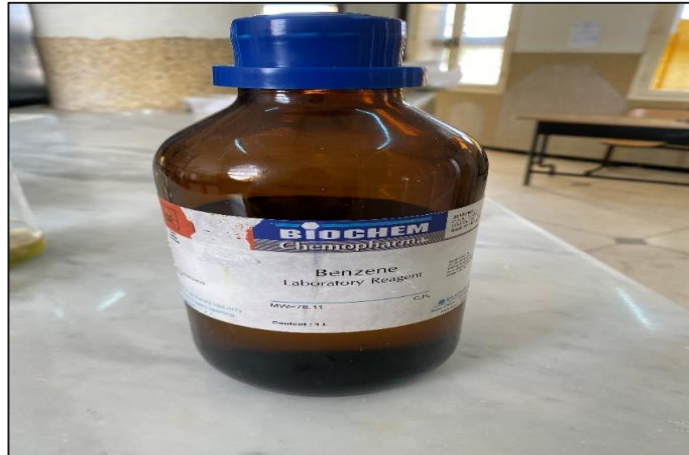
Le produits utilisée dans notre étude est le champignon le Reishi (*Ganoderma Lucidum* )



Figure 07 : *Ganoderma lucidum* (photo personnelle)

### II.1.2. Matériels chimique

Le produit chimique utilisé dans notre expérience est un solvant (benzène), on en fait une dilution à 10% avec l'eau distillée.



**Figure 08 : Flacon de Benzène**

### II.1.3. La réparation des animaux

Les lapins ont été divisés en 3 et 4 lapins/cage. Ces cages sont équipées de filets et disposent de petits bassins d'eau et de la nourriture spéciale pour lapins. Il est nettoyé quotidiennement.

Les lapins ont subi une période d'adaptation d'environ 1 semaine et ont été nourris par alimentation spécial riche en protéines et en vitamines.



**Figure 09 : Animalerie du centre universitaire MILA**

## II.2. Méthode

### II.2.1. Protocol expérimentale

Après la pesée des lapins, on les a réparties en trois groupes chacun contient 5 lapins, la pesée est réalisée chaque début de semaine durant la période d'expérimentation.



Figure 10 : La pesée de lapins

#### ➤ La préparation de dilution de benzène

Le benzène a été dilué dans l'eau distillé.



Figure 11 : Matériels de dilution



➤ **La préparation de Reishi**

Nous pesons 0.50 g de reishi pour chaque lapin et on le mélange avec une quantité d'eau chaude. Le traitement ce fait par gavage.



**Figure 12 : La préparation de reishi**

- Le 1er groupe : ce sont les témoins(T) qui ne reçoit rien durant la période de traitement.
- Le 2eme groupe : reçoivent le benzène (DI) seul (1 ml) par jour pendant 4 semaines.
- Le 3eme groupe : reçoivent le benzène (1ml) plus le reishi 0.5 g (DII) une fois par jour durant les 4 semaines.



**Figure 13 : Lapin (DII) injecté par le benzène et traité par le reishi**

Le tableau suivant montre la répartition et le traitement des lapins (tableau 3)

**Tableau 4 : la répartition et le traitement des lapins.**

Groupes	T	DI	DII
Doses	Nombre =5 Témoins	Nombre =5 Benzène : 1ml	Nombre =5 Benzène 1ml + Reishi 0.5 g

### II.2.2. Préparation de prélèvements

Le sacrifice a duré 2 jours.



**Figure 14 : Sacrifice du lapin**

#### II.2.2.1. Prélèvement du sang

Le prélèvement sanguin a été prélevé immédiatement après l'abattage et il a été recueilli dans des tubes :

- Secs, sans anticoagulant qui subit une centrifugation de 3000 tours/ minute, pendant 10 minutes, le sérum obtenu est mis au- 20°C jusqu'au moment du dosage hormonal

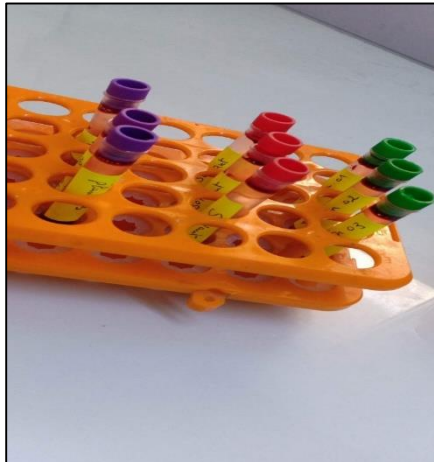
(Testostérone)

- EDTA, pour le dosage des paramètres hématologiques (nombres des globules blancs, rouges, hémoglobine).
- Lithium Héparine, anticoagulant pour le dosage des paramètres biochimiques qui



Subit aussi une centrifugation (Glucose, Cholestérol et Triglycéride).

On utilise les tubes Eppendorf pour récupérer le plasma, le sérum.



**Figure 15 : Prélèvement du sang**

**Figure 16 : Centrifuges**

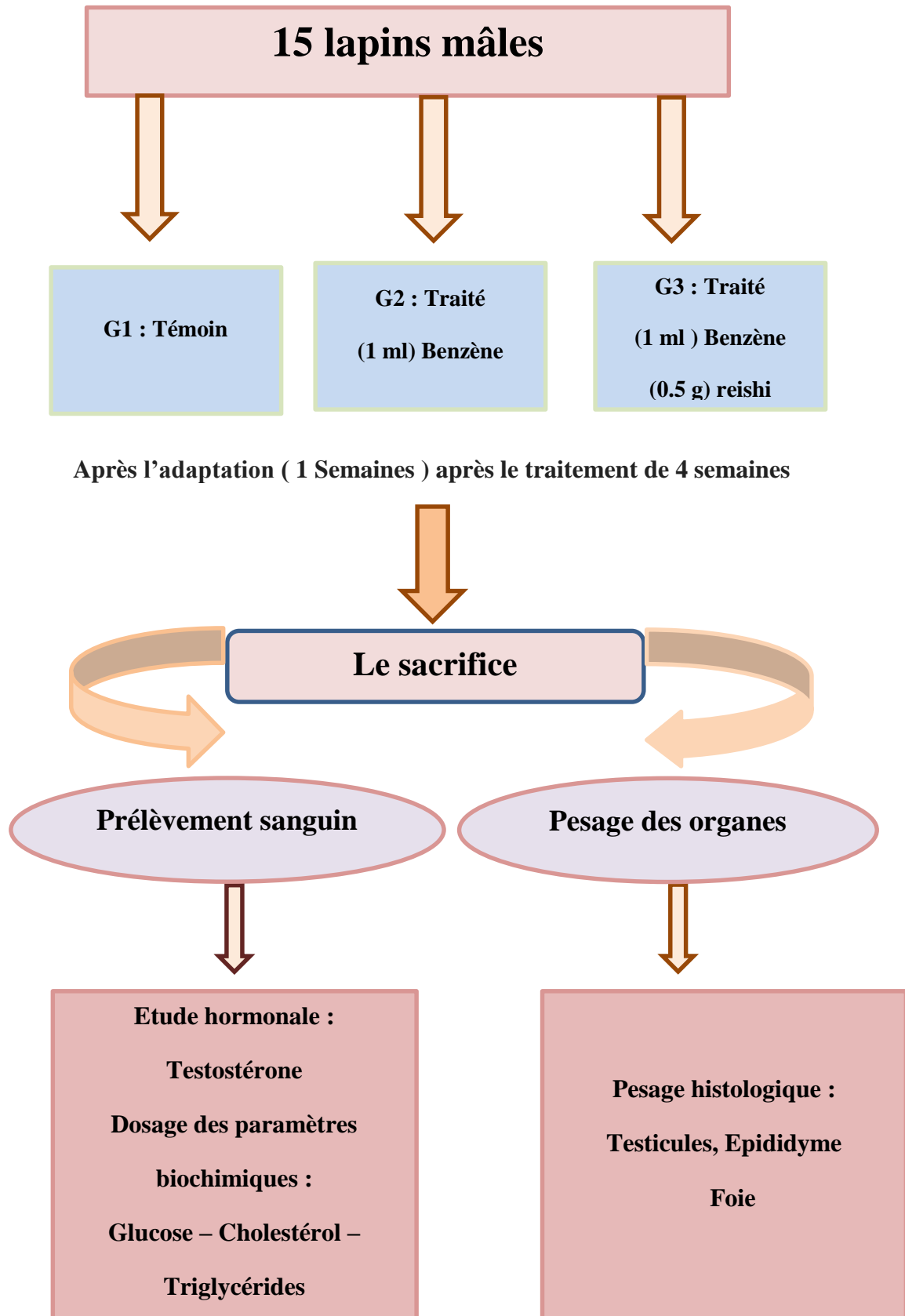


Figure 17 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental

### II.2.2.2. Prélèvement des organes

Après la dissection nous prélevons l'épididyme, les testicules et le foie de chaque lapin

Puis on les rince avec le sérum physiologique et nous les pesons.



**Figure 18 : Prélèvement des organes**

### II.2.3. Dosage des paramètres biochimiques

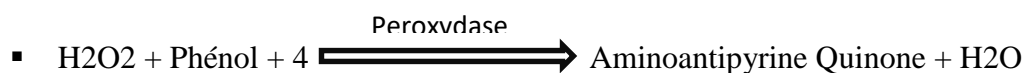
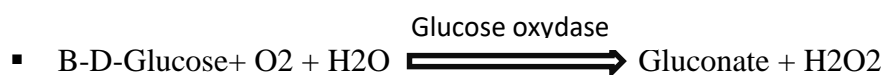
Mettre les tubes héparines dans la centrifugeuse 3000 tours/10 min, ensuite on prend le Sérum pour les tests biochimiques.

#### II.2.3.1. Dosage du glucose :

Selon la fiche technique Spinreact :

- **Principe :**

Le glucose subit des réactions couplées décrites ci-dessous pour donner un complexe coloré, qui peut être mesuré à la spectrométrie.



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon.

- **Echantillon** : Sérum
- **Réactifs utilisés** :

Les réactifs	Compositions	Concentration
<b>R1 Tampon</b>	<b>Tris pH 7.4</b> <b>Phénol</b>	<b>92 m mol/l</b> <b>0.3 m mol/l</b>
<b>R2 enzymes</b>	<b>Glucose oxydase (GOD)</b> <b>Peroxydase (POD)</b> <b>4- Aminophenazone (4-AP)</b>  <b>Glucose oxydase (GOD)</b> <b>Peroxydase (POD)</b> <b>4- Aminophenazone (4-AP)</b>	<b>15000 U/l</b> <b>1000 U/l</b> <b>2.6 m mol/l</b>
<b>Glucose cal</b>	<b>Étalon du glucose aqueux</b> <b>primaire</b>	<b>100 mg/dl</b>

- **Préparation des réactifs de travail (RT) :**

✚ Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.

✚ Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est

stable 4 mois à 2-8, ou 40 jours à 15-25 C°.

- **Mode opératoire :**

	<b>Blanc</b>	<b>Étalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>RT (ml)</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>
<b>Étalon (µl)</b>	...	<b>1.0</b>	...
<b>Echantillon (µl)</b>	...	...	<b>1.0</b>

✚ Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37C°.

✚ Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 500 nm et de l'étalon contre le blanc, la couleur est stable après 30 min.

- **Calcul** : la concentration du glucose dans l'échantillon est calculée par la formule

Suivante :

$$(A) \text{ échantillon Glucose ( mg /dl) } = \frac{100}{(A) \text{ étalon}}$$

Facteur de conversion = mg/dl x 0.055 = m mol/l

La concentration de l'étalon = 100 mg/dl

### II.2.3.2. Dosage du cholestérol :

Selon la fiche technique Spinreact

- **Principe :**

Le cholestérol présent dans l'échantillon forme un complexe coloré selon la réaction suivante :

- $$\text{Cholestérol esters} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Cholestérol estérase}} \text{Cholestérol} + \text{acides gras.}$$
- $$\text{Cholestérol} + \text{O}_2 \xrightarrow{\text{Cholestérol oxydase}} \text{Cholestérol-4-one} + 4 \text{H}_2\text{O.}$$
- $$2 \text{H}_2\text{O}_2 + \text{phénol} + 4 \xrightarrow{\text{Peroxydase}} \text{Aminophenazone Quinonimine} + 4 \text{H}_2\text{O.}$$

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon.

- **Echantillon** : Sérum
- **Réactifs utilisés** :

Les réactifs	Composition	Concentration
<b>R1 Tampon</b>	<b>PIPES pH 6.9 Phénol</b>	<b>90 m mol/l 26 m mol/l</b>
<b>R2 enzymes</b>	<b>Cholestérol estérase (CHE) Cholestérol oxydase (CHOD) Peroxydase (POD) 4- Aminophenazone (4-AP)</b>	<b>300 U/l 300 U/l 1250 m mol/l 0.4m mol/l</b>
<b>Cholestérol cal</b>	<b>Etalon du Cholestérol aqueux primaire</b>	<b>200 mg/dl</b>

- **Préparation des réactifs du travail** :
  - + Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.
  - + Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 1 mois à 2-8 C° à l'abri de la lumière.
- **Mode opératoire** :

	Blanc	Etalon	Echantillon
<b>RT (ml)</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>
<b>Etalon (µl)</b>	...	<b>1.0</b>	...
<b>Echantillon (µl)</b>	...	...	<b>1.0</b>

- + Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37C°, ou 10 min à la température de 25C°.
- + Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm et de l'étalon contre le blanc , La couleur est stable après 60 min.

$$\text{Concentration du cholestérol (mg/dl)} = \frac{(A) \text{ échantillon} \times 200}{(A) \text{ étalon}}$$

- ✚ La concentration de l'étalon = 200 mg/dl.
- ✚ Facteur de conversion = mg/dl x 0.025 = m mol/l.

### II.2.3.3. Dosage des triglycérides :

Selon la fiche technique Spinreact

- **Principe :**

Les triglycérides présents dans l'échantillon forment un complexe coloré selon la réaction suivante :

- Les triglycérides + H<sub>2</sub>O  $\xrightarrow{\text{Lipoprotéine lipase}}$  Glycérol + acides gras libres
- Glycérol + ATP  $\xrightarrow{\text{Glycerol Kinas}}$  Glycerol 3 – phosphate + ADP
- 2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + P-chlorophénol + 4-Aminophenazone  $\xrightarrow{\text{Peroxydase}}$  Quinone + H<sub>2</sub>O.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon.

- **Echantillon :** Sérum
- **Réactifs utilisés :**

Les réactifs	Composition	Concentration
R1 Tampon	GOOD pH 7.5 P- chlorophénol	50 m mol/l 2 m mol/l
R2 enzymes	Lipoprotéine lipase Glycérol kinase Glycérol 3- phosphate Peroxydase (POD) 4- Amin antipyrine (4-AP)  ATP	150000 U/l 500 U/l 2500 m mol/l 440 U/l 0.1m mol/l 0.1 m mol/l
Triglycérides cal	Etalon de triglycérides aqueux primaire	200 mg/dl

- **Préparation des réactifs du travail :**

- ✚ Dissoudre le contenu de R2 dans la fiole de R1.
- ✚ Mélanger bien et doucement jusqu'à la dissolution complète. Ce réactif de travail est stable 6 semaines C° ou une semaine à 15-25 °C.

- **Mode opératoire :**

	Blanc	Etalon	Echantillon
RT (ml )	1.0	1.0	1.0
Etalon (µl)	...	1.0	...
Echantillon (µl)	...	...	1.0

- ✚ Agiter bien et incuber pendant 5 min à 37C°, ou 10 min à la température de 25C°.
- ✚ Mesurer l'absorbance (A) de l'échantillon à 505 nm et de l'étalon contre le blanc. La couleur est stable après 30 min.

$$\text{Concentration du cholestérol (mg/dl )} = \frac{(A) \text{ échantillon} \times 200}{(A) \text{ étalon}}$$

- La concentration de l'étalon = 200 mg/dl
- Facteur de conversion = mg/dl x 0.011 = m mol/l

#### II.2.3.4. Dosages des paramètres hématologiques

Les tubes utilise c'est EDTA selon la fiche codex de ITM 208 : HEMOGRAMME

- **Principe :**

La numération formule sanguine(FNS) est réaliser à partir d'une simple prise de sang en générale dans une veine du pli du coude un tube contenant un anticoagulant sec de type EDTA. Il est préférentiellement réalisé après une période de plusieurs heures sans manger (12heurs).

- **Echantillon :** sang
- **Des automates :** Coulter permettent ensuite une analyse fine des différents paramètres comme la quantité d'hémoglobine, le nombre de globules rouges, de globules blancs.

#### II.2.4. Etude histologique :



Les coupes histologiques ont été réalisées à l'hôpital de Haouari Boumadien de Chalghoume El-aide -Mila-, Service d'anatomie et histologie. Les préparations des coupes histologiques ont été effectuées selon la méthode de Martoja et Martoja (1967), elle comporte plusieurs étapes :

### **1. Fixation :**

La fixation représente le temps essentiel de la technique histologique, elle a pour but d'immobiliser les structures en respectant leurs morphologies et en les conservant.

La fixation doit être réalisée le plus tôt et le plus rapidement possible. Se rappeler que plus un échantillon n'est petit, plus la pénétration des différents milieux se fera facilement. On a réalisé des prélèvements avec surface de 1 à 2 cm<sup>2</sup> et une épaisseur proche de 2mm.

Dans notre étude, nous avons utilisé le liquide de Bouin (26ml formol, 7ml d'acide acétique, 45 ml acide picrique de 95%) fixateur couramment utilisé. L'utilisation de ce fixateur a pour avantage de durcir l'échantillon étudié sans le contracter et de ce fait sans l'abimer. Il est déconseillé par Martoja et Martoja (1967) de laisser séjourner les pièces plus de 48h dans ce fixateur.

### **2. Déshydratation :**

La paraffine n'est pas miscible à l'eau, la pièce anatomique doit être entièrement déshydratée avant l'inclusion dans la paraffine.

Une fois le fixateur éliminé par un rinçage à l'eau distillée, on passe à la déshydratation dans un automate qui immerge successivement les pièces dans :

- ❖ 07 bacs d'éthanol de concentration croissante (70%, 90%, 95%, 100%).
- ❖ 03 bacs de xylène.
- ❖ 02 bacs de paraffine chauffée à 70 C°.

On place à l'étuve et on laisse s'évaporer le xylène progressivement ; la durée de la déshydratation est de 17 heures.



**Figure 19 : Automate de déshydratation STP 120**

### 3. Inclusion :

Elle ne fera de façon satisfaisante qui est la pièce à couper ne contient ni eau ni solvant intermédiaire (alcool). Les pièces sont immergées dans de la paraffine qui a été fondue dans une étuve pendant 8 heures (étape de l'enrobage).



**Figure 20 : La pièce à couper immergées dans de la paraffine**



**Figure 21 : l'appareil de l'étuve**

### 4. Réalisation des blocs :

Les pièces induites de paraffine sont passées à l'intérieur des moules qui sont ensuite remplis de paraffine qui en se solidifiant va permettre sa coupe.

Les blocs ainsi constitués sont orientés et étiquetés.

Les blocs refroidissent ensuite pendant 15 à 20 minutes puis immergés dans de l'eau froide afin d'homogénéiser le refroidissement.



**Figure 22 : Station d'enrobage**



**Figure 23 : Bloque**

### **5. Confection des coupes :**

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant de subir la coupe au microtome (GTU « tissu-teks »), ayant généralement une épaisseur de 4 à 5  $\mu$ . Ces coupes sont ensuite collées sur des lames préalablement recouvertes de gélatine, ces lames sont placées sur une plaque chauffante afin de déplier le ruban. Après refroidissement, on procède à la coloration.



Figure 24 : Microtome



Figure 25 : Plaque chauffante

## 6. Coloration :

Il existe plusieurs techniques de coloration qui varient en fonction des tissus. La méthode à l'hématéine et à l'éosine (H et E) est la plus utilisée, cette technique nécessite la présence des solutions suivantes :

- **Alcool acide :**
  - Alcool éthylique à 70% : 100 m
  - Acide chlorhydrique concentré H Cl : 50ml
- **Eau ammoniacade :**
  - Eau distillé : 100 ml
  - Ammoniaque : 2 ml
- **Solution d'éosine :**
  - Eosine, solution aqueuse à 3% :10 ml
  - Alcool éthylique à 95% :125 ml
  - Acide acétique glacial : 2 gouttes
  - Eau distillée : 375 m

### La coloration suit les étapes suivantes :

- Déparaffiner et hydrater les lames à l'eau du robinet puis rincer à l'eau distillé.
- Emmarger dans un bain d'hématéine de Harris (15 minutes) qui colore en bleu violacée la structure basophile (noyaux). Puis laver les coupes à l'eau du robinet.

- Différencier les coupes dans l'alcool acide (1 à 2 plongées) : déposer ensuite la lame dans un bain d'eau du robinet et vérifier au microscope la différenciation.
- Bleuir dans l'eau ammoniacale et laver à l'eau du robinet (15 minutes).
- Emmarger dans un bain d'éosine (15 sec à 2 minutes) ; l'éosine ne doit produire qu'une coloration cytoplasmique franche et donner une gamme de rose plus vif. Selon l'intensité de l'acidophile des divers éléments.
- Déshydrater sur une lame, éclaircir, monter les lames à l'Eukitt.



**Figure 26 : Coloration des coupes histologique.**

Enfin on passe à l'observation au microscope photonique, lequel est équipé d'un appareil photographique.



**Figure 27 : Observation des coupes histologique avec le microscope.**

### **II.2.5. Etude hormonale**

Les dosages ont été réalisés au laboratoire privé selon la technique MAGLUMI Testostérone (CLIA).

- **Principe :**

Le dosage de la testostérone est un immunosage compétitif par chimiluminescence. L'échantillon (ou l'étalon /le contrôle. Le cas échéant). L'anticorps monoclonal anti -TEST marqué par l'ABEI. Les microbilles magnétique revêtues d'antigène TEST purifié sont mélangés saignement et incubés à 37°C .formant des complexes anticorps - antigène. Après la précipitation dans un champ magnétique. Le surnageant est décanté puis un cycle de lavage est effectué. Ensuite les Starters 1+2 sont ajoutés pour initier une réaction de chimiluminescence. Le signal lumineux est mesuré par un photomultiplicateur dans les 3 secondes en unités relatives de lumière (URL). Qui est inversement proportionnel à la concentration de TEST présente dans l'échantillon (ou l'étalon/ le contrôle. Le cas échéant).

- **Echantillon :** Sérum
- **Réactifs utilisés :**

Réactifs	Contenu	100 testes (REF : 130202010M )	50 tests (REF : 130602010 )
Microbilles magnétiques	Microbilles magnétiques revêtues d'antigène TEST contenant de laBSA,NaN3 (<0.1%)	2.5 ml	2.0 ml
Etalon bas	Contenant de la BSA et de l'antigène TEST ,NaN3 (<0.1%)	2.5 ml	2.0 ml
Etalon haut	Contenant de la BSA et de l'antigène TEST ,NaN3 (<0.1%)	2.5 ml	2.0 ml
Tampon	Contenant de la BSA ,0.25% d'ANS,NaN3 (<0.1%)	6 .5 ml	4.0 ml
Marquage ABEI	Anticorps monoclonal anti- TEST marqué avec l'ABEI , contenant de la BSA, NaN3 (<0.1%)	6.5 ml	4.0 ml
Contrôle de qualité interne	Contenant de la BSA et de l'antigène TEST ,NaN3 (<0.1%)	2.0 ml	2.0 ml

- **Préparation du réactif :**

Pour garantir une performance adéquate du test. Respecter scrupuleusement les instructions d'utilisation de l'analyseur d'immunoanalyse par chimiluminescence entièrement automatisé de la série MAGLUMI.

- **Calcul**

L'analyseur calculer automatiquement la concentration de testostérone dans chaque échantillon au moyen d'une courbe d'étalonnage qui est générée par une procédure de courbe

maître d'étalonnage en 2 points. Les résultats sont exprimés en ng/ml. Pour toute information complémentaire veuillez consulter les instructions d'utilisation de l'analyseur d'immuno-analyse par chimiluminescence entièrement automatisé de la série MAGLUMI.

Facteur de conversion :  $\text{ng/mL} \times 3,47 = \text{nmol/L}$ .

**Interprétation des résultats :**

Les plages attendues pour le dosage de la testostérone ont été obtenues en testant 180 hommes en bonne santé apparente en chine, et ont donné les valeurs attendues suivantes :

- **Hommes** : 2,2-10,5 ng/mL (2,5 ème -97,5 ème percentiles).
- **Femmes** : <1,0 ng/mL (95 ème percentile).

Les résultats peuvent être différents entre les laboratoires en raison des variations au sein de la population et de la méthode de test il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres plages attendues.

**II.2.6. Traitement statistique des résultats :**

Les résultats ont été représentés sous forme de moyenne plus ou moins (Moy $\pm$  SEM)

L'écart type moyen, les moyennes ont été comparées par un test t de Student.

L'analyse statistique des données a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (Version 17).

Les différences sont considérées comme :

- Significatives lorsque ( $P \leq 0,05$ ).
- Hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ).
- Très hautement significative comparant au témoin ( $P \leq 0,01$ ).
- Non significative lorsque ( $P \leq 0,05$ ).





***Chapitre III :***  
***Résultats***

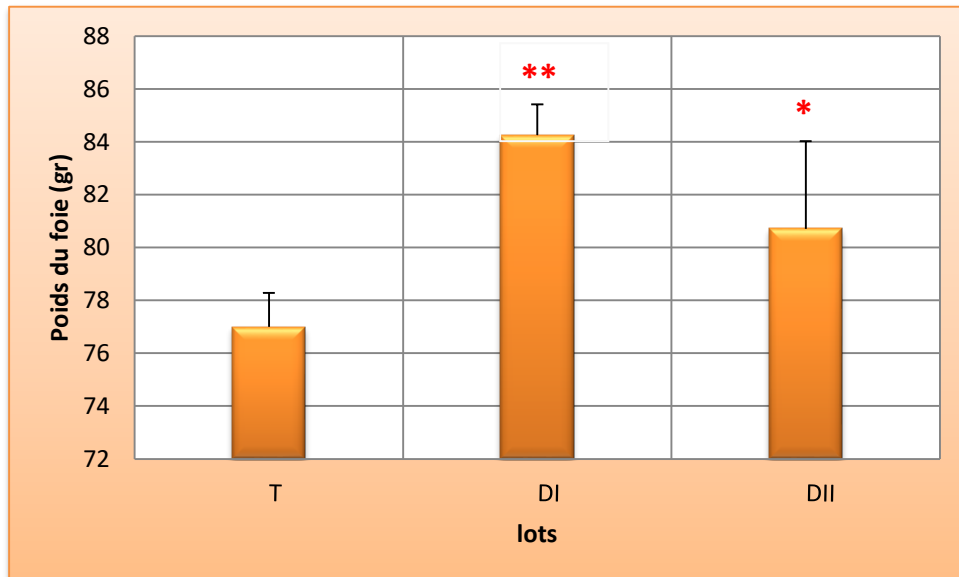
### III.1. Etat pondérale des organes :

#### III.1.1 Foie :

Les résultats illustrent une augmentation hautement significative (HS) ( $P \leq 0,01$ ) du poids de foie chez le groupe traité au benzène comparant au groupe témoin et une diminution significative (S) ( $P \leq 0,05$ ) chez le lot traité au benzène plus le champignon comparant aux lapins du groupe traité uniquement au benzène (tab.05; Fig.28).

**Tableau 05 : Variation du poids du foie chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII(n=5)**

Organe	Les lots expérimentaux		
	Témoin (T)	DI	DII
<b>Le foie :</b>	76,9986 ±1,29	84,26±1,15	80,71±3,32



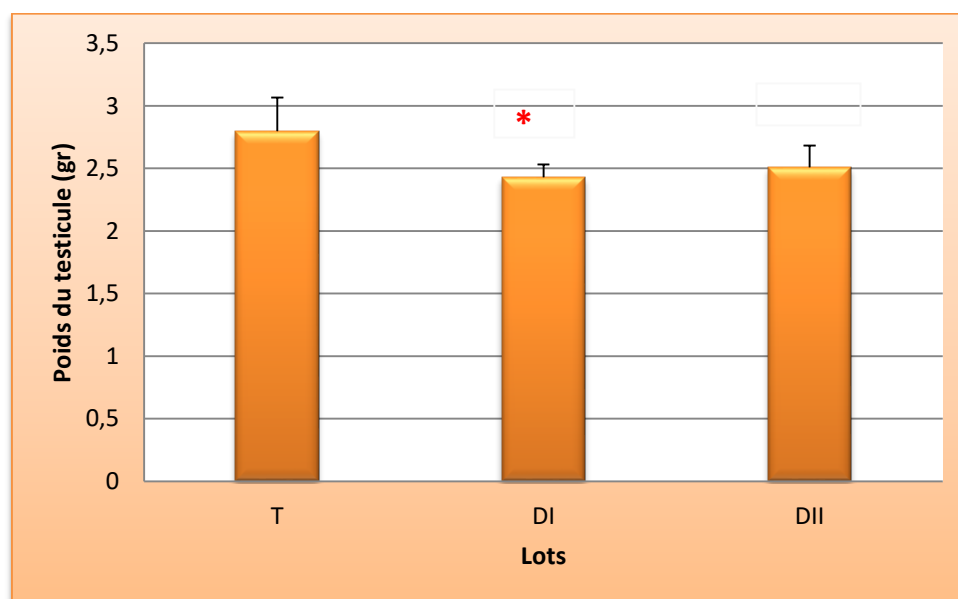
**Figure 28 : variation de moyenne (X SD) du poids (P)du foie chez le lot témoin et le lot traités.**

### III.1.2. Testicule

On note une diminution significative (S) ( $P \leq 0,05$ ) du poids du testicule chez le groupe DI recevant le benzène comparant au témoin et une augmentation non significative (NS) ( $P \geq 0,05$ ) du poids des testicules du groupe DII recevant le benzène + le champignon comparativement au groupe DI (tab.06; Fig. 29).

**Tableau 06 : Variation du poids du testicule chez le lot témoin (T) et les lots traités DI/DII(n=5).**

Organe	Les lots expérimentaux		
	Témoin (T)	DI	DII
<b>Testicule (gm):</b>	2,796 ± 0,27	2,43 ± 0,1	2,508±0,17



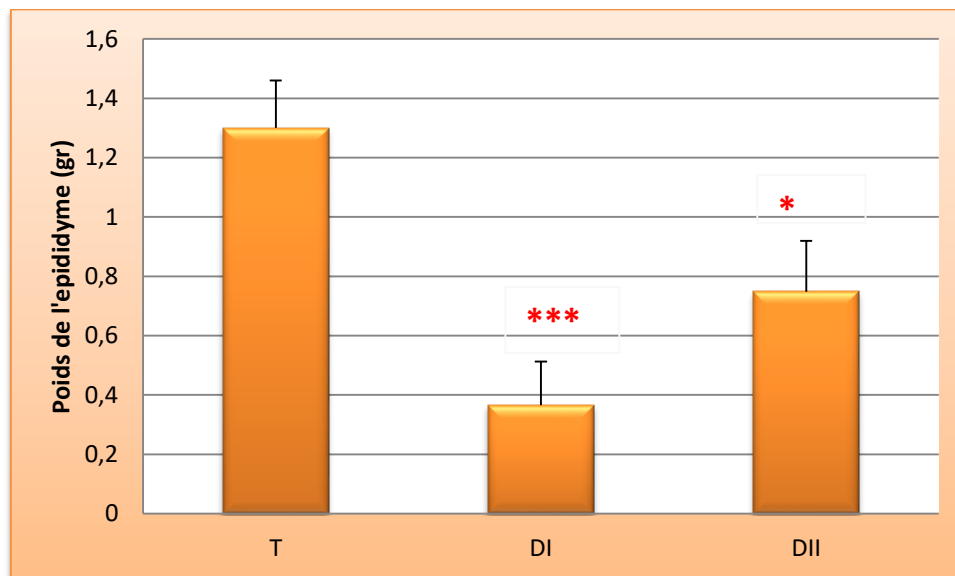
**Figure 29 : Variation moyenne(X SD) du poids (P)de testicule chez le lot témoin et le lot traités.**

### III.1.3. Epididyme :

Les résultats illustrent une diminution très hautement significative (THS) ( $P \leq 0,001$ ) du poids de l'épididyme chez le groupe traité au benzène comparant au groupe témoin et une augmentation significative (S) ( $P \geq 0,05$ ) chez le lot traité par le benzène plus le champignon comparant aux lapins du groupe DI (tab.07; Fig 30).

**Tableau 07 : Variation du poids de l'épididyme chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5).**

Organe	Les lots expérimentaux		
	Témoin (T)	DI	DII
L'épididyme (gm):	1,3 ±0,16046807	0,366 ±0,14656057	0,748±0,17166828



**Figure 30: variation moyenne (X SD) du poids (P)de l'épididyme chez le lot témoin et le lot traités**

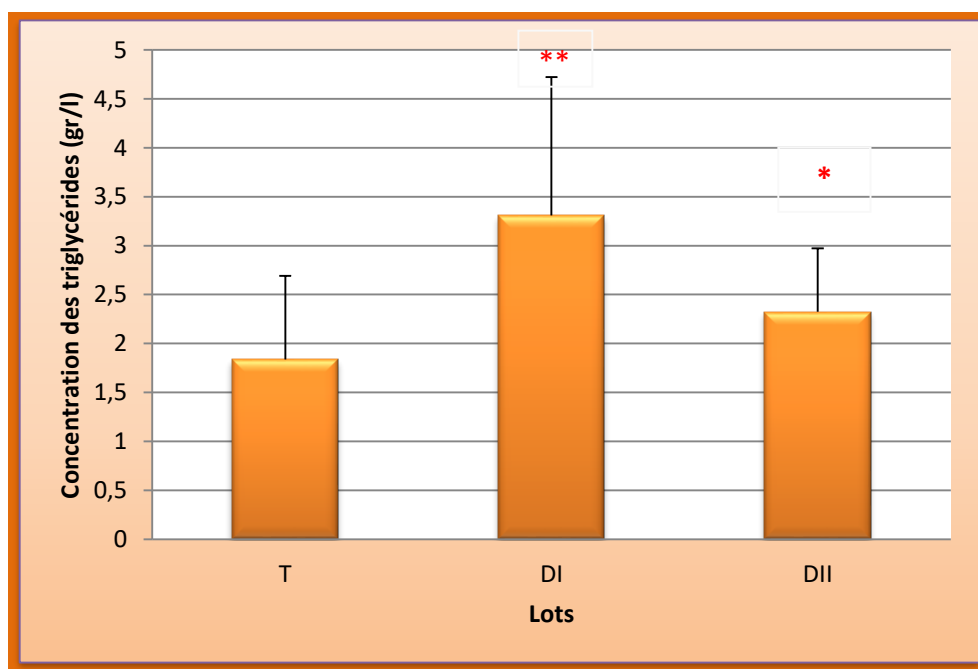
## III.2. Etude des paramètres biochimiques :

### III.2.1. Triglycérides :

Nous enregistrons aussi une augmentation hautement significative des TG ( $P \leq 0,001$ ) chez les lapins traités au benzène DI par rapport au témoin, et une diminution significative ( $P \leq 0,05$ ) chez les lapins du lot DII (Tab.08, Fig.31).

**Tableau 08 :Variation de la concentration de triglycérides chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5).**

Paramètres	Les lots expérimentaux		
	Témoin (T)	DI	DII
Triglycérides(gm/l):	1,386±0,85447645	3,308 ±1,41374326	2,324 ±0,64755695



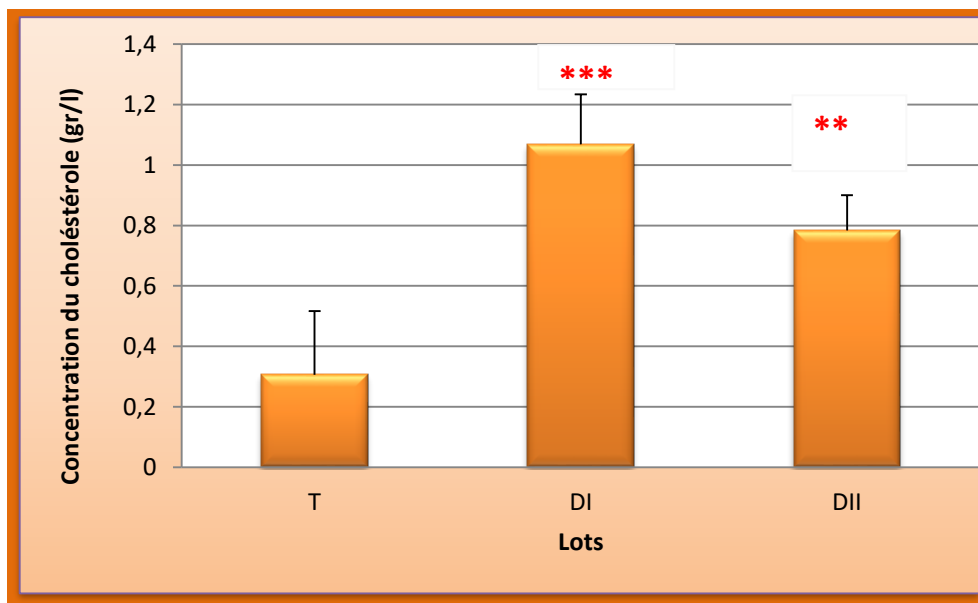
**Figure 31 :Variation moyenne (X SD) de la concentration de triglycérides chez le lot témoin et le lot traités.**

### III.2.2. Cholestérol :

Nos résultats montrent aussi une augmentation très hautement significative ( $P \leq 0,05$ ) du taux de cholestérol chez le lot traité DI par rapport au témoin et une diminution hautement significative chez le lot DII traité au benzène plus le champignon ( $P \leq 0,001$ ) par rapport au lot DI (Tab.09 ; Fig. 32).

**Tableau 09 : variation de la concentration de cholestérol chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5)**

Organe	Les lots expérimentaux		
	Témoin (T)	DI	DII
<b>Cholestérol (gm/l) :</b>	0,306±0,21125814	1,068±0,16604216	0,784±0,11631853



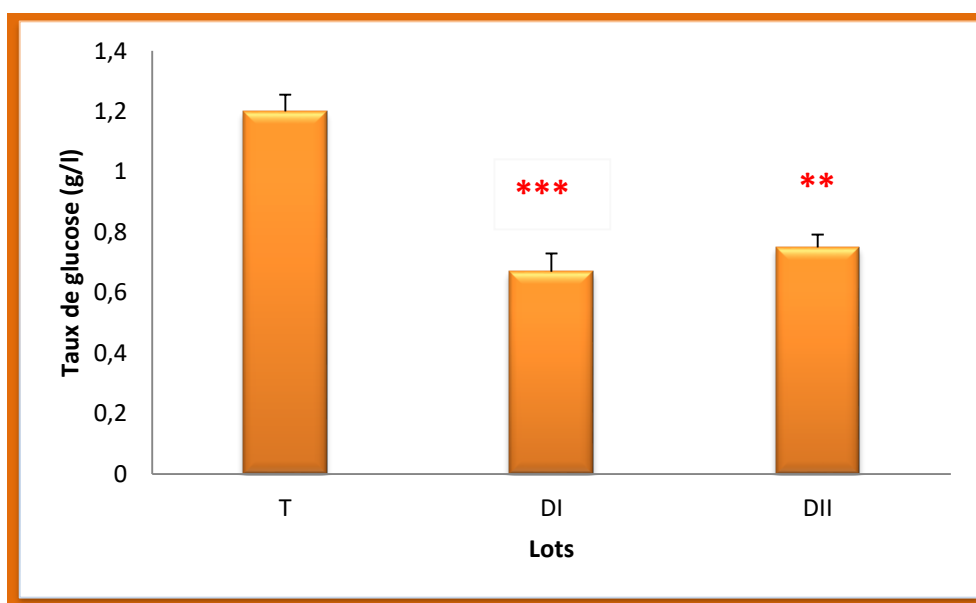
**Figure 32 :Variation moyenne(X SD) de la concentration de cholestérol chez le lot témoin et le lot traités.**

### III.2.3. Glucose :

Les résultats illustrent une diminution très hautement significative ( $P \geq 0,001$ ) du taux du glucose entre le lot témoin et le lot traité au benzène DI et une augmentation hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) chez le lot DII (Tab.10 ; Fig.33).

**Tableau 10 : variation du taux de glucose chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5)**

Paramètre	Les lots expérimentaux		
	Témoin (T)	DI	DII
Le glucose(g/l) :	1,2±0,055	0,67±0,06	0,75 ±0,042



**Figure 33 : Variation moyenne(X SD) du taux de glucose chez le lot témoin et les lots traités.**

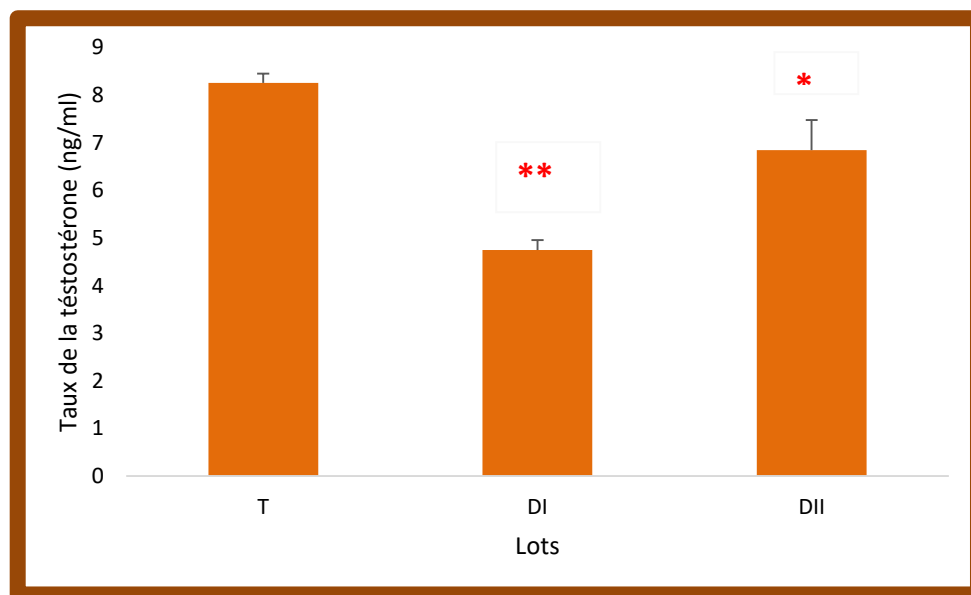
### III.3. Etude de reproduction :

#### III.3.1. Taux de testostérone :

L'effet du benzène sur le taux plasmatique de la testostérone se manifeste chez les animaux appartenant aux lot DI, traité avec du benzène. En effet, chez ces animaux, la teneur plasmatique de la testostérone présente une diminution hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) Elle passe de 8.25mg/ml chez les témoins à 4,74mg/ml chez les animaux du lot DI traités au benzène et pour le lot traité avec le benzène plus le champignon on enregistre une augmentation significative ( $P \leq 0,05$ ). (Tab.11 ; Fig.34).

**Tableau 11 : variation de taux de la testostérone chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5).**

Paramètres	Les lots expérimentaux		
	Témoin (T)	DI	DII
<b>Tétestostérone(mg/l) :</b>	8,258±0,19485892	4,744±0,21407942	6,844±0,63661605



**Figure 34 : Variation moyenne (X SD) de taux de la testostérone chez le lot témoin et le lot traités.**



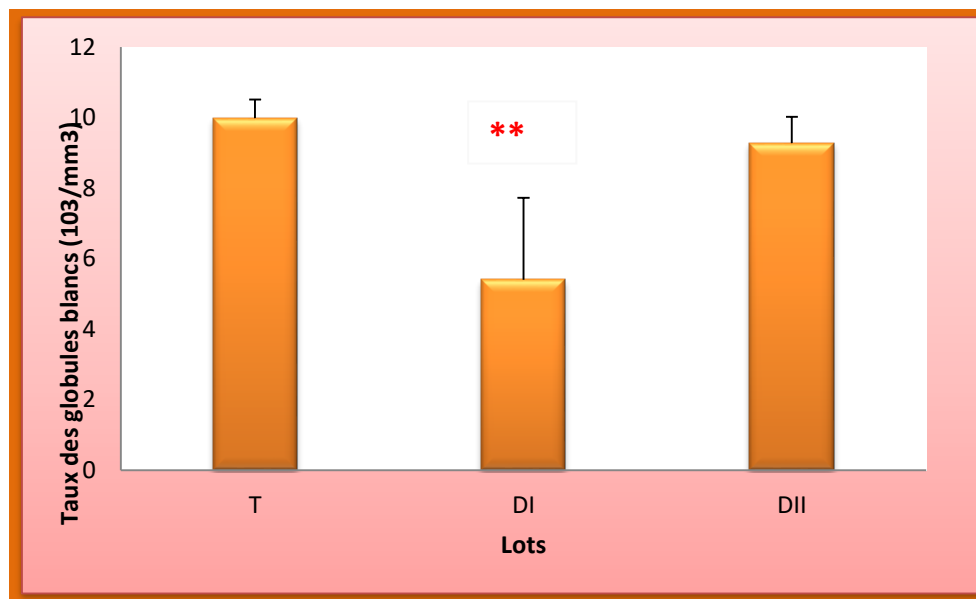
### III.4. Etude des paramètres hématologiques :

#### III.4.1. Globule blanc :

Les résultats obtenus montrent une diminution hautement significative ( $P \leq 0,05$ ) des GB chez les lapins traités au benzène DI par rapport au témoin, et une augmentation non significative ( $P \geq 0,05$ ) chez les lapins du lot DII (Tab.12, Fig.35).

**Tableau 12 : Variation de taux des globules blancs chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5).**

Paramètres	Les lots expérimentaux		
	Témoin (T)	DI	DII
Globule blanc(10/mm) :	9,98±0,53	5,4±2,32	9,28±0,74



**Figure 35 : Variation moyenne (X SD) de taux des globules blancs chez le lot témoin et les**

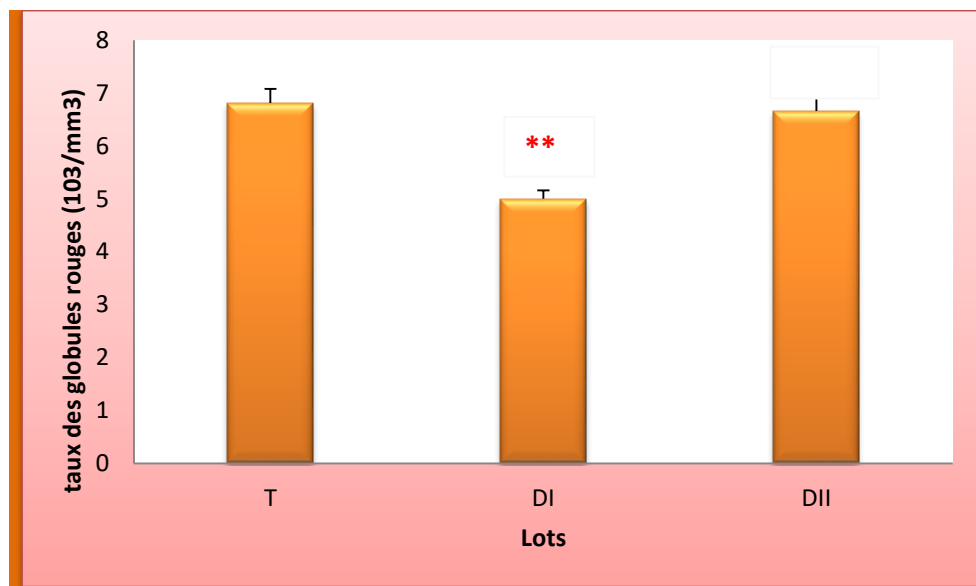
**Lots traités.**

### III.4.2. Globule rouge :

Les résultats obtenus montrent une diminution hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) des GR chez les lapins traités au benzène DI par rapport au témoin , et une augmentation non significative ( $P \geq 0,05$ ) chez les lapins du lot DII par rapport au lot témoin (Tab.13, Fig.36).

**Tableau 13 : Variation de taux des globules rouges chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5).**

Paramètres	Les lots expérimentaux		
	Témoin (T)	DI	DII
Les globules rouges(10/mm) :	6,81±0,27	5±0,16	6,66±0,51



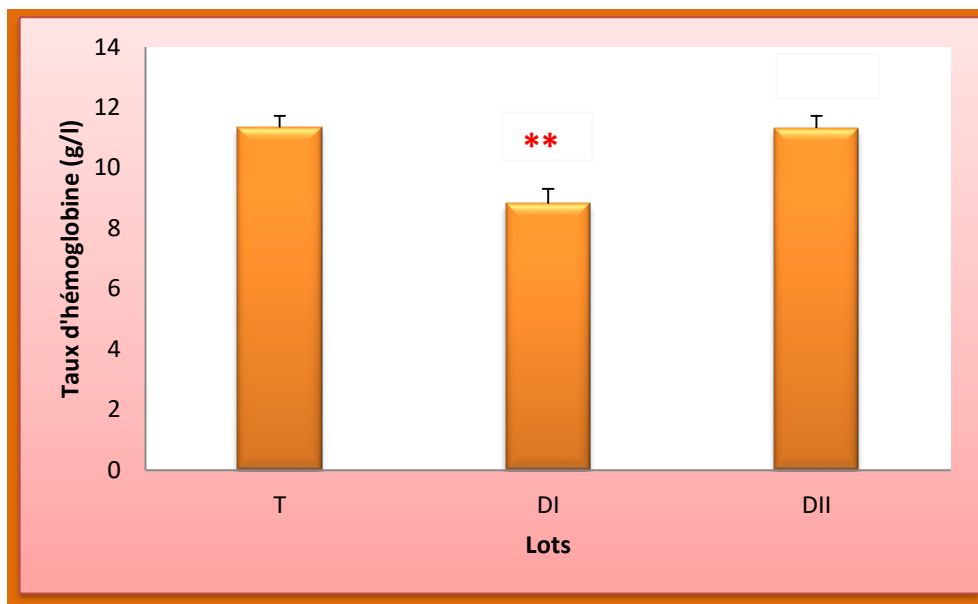
**Figure 36 :Variation moyenne(X SD) de taux des globules rouges chez le lot témoin et le lot traités.**

### III.4.3. Hémoglobine :

Il y'a aussi une diminution hautement significative de l'HB ( $P \leq 0,01$ ) chez les la pins traités au benzène DI par rapport au témoin, et une augmentation non significative ( $P \geq 0,05$ ) chez les lapins du lot DII (Tab.14, Fig.37).

**Tableau 14 : Variation de taux de l'hémoglobine chez le lot témoin(T) et les lots traités DI/DII(n=5)**

Paramètre	Les lots expérimentaux		
	Témoin (T)	DI	DII
L'hémoglobine(g/l) :	11,34± 0,38	8,82±0,48	11,32±0,4



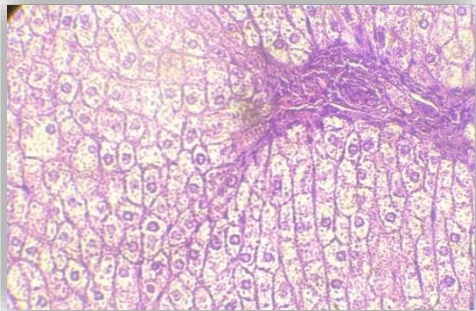
**Figure 37 :Variation moyenne (X SD) de taux de l'hémoglobine chez le lot témoin et les lots traités.**

### III.5. Etude histologique

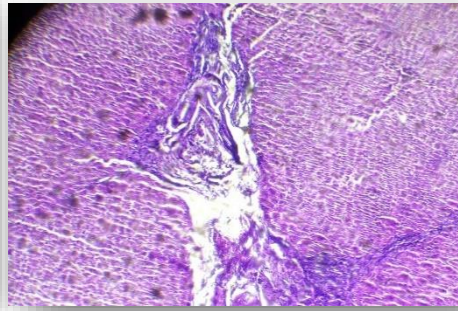
#### III.5.1. Atteinte tissulaire au niveau du foie

L'observation microscopique du foie des lapins traités au solvant (Benzène) pendant 4 semaines successives révèle une modification cellulaire bien visible, qui est traduite par la présence d'une nécrose hépatique caractérisée par une clarification de la couleur du cytoplasme. Ces altérations graves de la structure affectent la fonction hépatique et peuvent contribuer à un dysfonctionnement de cet organe.

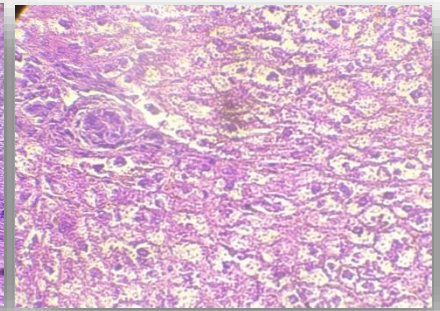
En ce qui concerne les lapins traités au benzène plus le champignon l'observation microscopique du foie a mis en évidence un parenchyme hépatique d'aspect conservé en dehors de la discrète lésion observée.



**T : Coupe histologique du foie d'un lapin témoin**



**DI : coupe histologique d'un lapin traité au benzène**



**DII : coupe histologique d'un lapin traité au benzène plus champignon**



*Chapitre IV :*  
*Discussion*

L'exposition aux solvants peut affecter la santé ; les effets varient selon le solvant utilisé. Les effets néfastes du benzène sont connus depuis la fin du XIXe siècle. Même s'il en est résulté une diminution de l'utilisation de ce solvant en Amérique du nord, il n'en demeure pas moins que les Etats-Unis ont produit, une grande quantité de benzène. Le benzène demeure donc encore aujourd'hui un produit dont les quantités dans l'environnement et les milieux de travail ne sont pas négligeables [42].

Nous avons tenté dans le cadre de cette étude, d'évaluer l'impact de ce solvant toxique (benzène) sur des lapins *Oryctolagus cuniculus*. Nous discuterons nos résultats aux regard des travaux publiés dans autres études.

Les résultats obtenues ont tout d'abord mis en évidence une augmentation hautement significative du poids du foie chez les animaux ayant reçu uniquement du benzène. Chez le rat Fischer, une intoxication par 0,7 mg de l'hexa chlorobenzène pendant 15 semaines entraîne une augmentation du poids du foie [43,44,45]. Le traitement par des doses très faibles de l'ordre de 5 µg/kg/j pendant 90 jours est susceptible de faire apparaître cette manifestation chez la caille du Japon [46,47].

De plus dans notre étude, une réduction considérable du poids des testicules et de l'épididyme chez le lot DI traité au benzène par rapport au lot témoin à été enregistrée. Ceci est en accord avec les résultats de Truhaut R 1977 qui à observé une atrophie et une dégénérescence des organes reproducteurs (Testicules et épидидyme). Et ils sont similaires avec une étude qui à montré que l'exposition de rats, et lapins mâles à une concentration atmosphérique de 80 ppm, 7 h/j, 5 j/semaine pendant 8 à 10 mois, provoque des lésions testiculaires [48].

A propos des paramètres biochimiques nos résultats on montrés une diminution très hautement significative du taux du glucose, une augmentation hautement significative des triglycérides et une augmentation très hautement significative du taux du cholestérol chez le lot traité au benzène par rapport au témoin.

Pour le glucose, l'étude de Adenuga et al. (2014) à montré que une baisse du taux de glucose à été provoquée chez des rats Spragu–Dawley (mâles et femelles) exposés aux solvants hydrocarbonés aliphatiques par voie orale à raison de 0, 500, 2500 et 5000 mg kg/jour pendant 90 jours. Ce qui peut être due au dysfonctionnement des processus d'absorption intestinale des nutriments et de la consommation alimentaire [49]. On note aussi que l'inhibition des enzymes engagées dans le phénomène de la gluconéogenèse fait partie des toxicité des solvants hydrocarbures aliphatiques [50].

Aucune étude n'a été décrite sur l'évaluation des effets du benzène sur le taux du cholestérol et du triglycéride.

Selon Stumph et al. 1985 le changement dans le taux du cholestérol peut être due à un déséquilibre du métabolisme qui est due aux dommages au niveau du tissu et de la fonction du foie, ce changement peut être le résultat d'un déséquilibre dans les enzymes responsables de la transformation du cholestérol aux hormone sexuel, ce qui à conduit à la diminution du taux du cholestérol [51].

La toxicité hématopoïétique est une conséquence grave de l'exposition au benzène chez l'animal comme chez l'homme[52]. Nos résultats ont montrés une modifications dans les paramètres hématologiques qui se traduit par une diminution des globules blancs (GB), globules rouges (GR) et de l'hémoglobine (Hb). Ce qui est en accord avec l'étude de Yamei Qiao et al 2023 qui a révélé que le benzène réduisait le nombre de globules blancs (GB), de lymphocytes (LY) et de globules rouges (GR), ainsi que les concentrations d'hémoglobine (Hb) et de plaquettes (PLT). Conformément aux résultats d'études antérieures, l'exposition au benzène a été connue par la diminution du nombre de GB, GR, PLT et la concentration d'Hb [53].

On ce qui concerne le taux de testostérone nous résultats montre un diminution hautement significative de ce dernier chez le lot traité uniquement au benzène ce qui à été confirmer par une étude sur un nombre restreint de femmes exposées à un mélange de benzène, toluène et xylènes à des concentrations atmosphériques moyennes en benzène de 8,8 ppm (0,90 - 876,47), qui à montrée des modifications des taux de FSH et de métabolites estrogéniques et qui suggère une possible action de ces solvants sur l'axe hypothalamo-hypophysaire [54].

la deuxième partie de notre étude à été consacré à démontré l'effet correcteur d'un champignon Ganoderma contre les effets nocifs du benzène.

Ganoderma est utilisé comme un complément alimentaire quotidien qui s'adapte pour corriger les déséquilibres de l'organisme [55].

Il a été démontré que le champignon médicinal Ganoderma lucidum a de nombreux effets bénéfiques. G. Il est très probable que la spore de G. lucidum pourrait protéger contre la toxicité des substances toxiques pour l'environnement comme les métaux lourds, les solvants etc.....

Nous résultats on montré un diminution significative du poids du foie chez le lot traité au Ganoderma par rapport au groupe traité au benzène uniquement et une coupe histologique du foie presque similaire à celle du groupe témoins ce qui peut être expliquer par l'effet bénéfique du reishi pour le foie. les plantes et d'autres micro-organismes, ont potentiel antioxydant et anti-inflammatoire et peut protéger le foie des dommages causés par l'exposition à produits chimiques [56,57]. Les produits naturels sont actuellement largement utilisés comme traitements alternatifs pour les maladies du foie [58].

De nombreuses études et recherches ont démontré l'efficacité du reishi dans la protection du foie [59]. Les triterpènes, composés actifs du reishi, ont un effet protecteur sur les lésions hépatiques induites par l'alcool. Le reishi est connu pour être un antioxydant puissant. Une étude [60] a été réalisée sur 42 personnes qui ont été séparées en deux groupes : groupe placebo et groupe ayant reçu du *Ganoderma Lucidum* (reishi) pendant 6 mois. Les résultats ont montré que le reishi possède des propriétés antioxydants et même hépato protectrices en freinant le stress oxydatif.

Concernant l'effet du benzène sur le poids des organes reproducteurs (testicule et épiddidyme). Nos résultats ont montrés une augmentation non significative dans le poids des testicules et une augmentation très hautement significative du poids de l'épiddidyme chez les animaux traités au benzène plus le *Gnoderma*.

Dans l'étude de Yanhong li 2022 Lors de l'analyse de la microstructure des testicules, la morphologie et la structure des mitochondries chez les souris modèles étaient relativement complètes, révélant en outre que le *Ganoderma* peut jouer un rôle dans le maintien de la morphologie et de la fonction du tissu testiculaire et du sperme.

Nos résultats illustrent l'effet correcteur du *Ganoderma* dans les paramètres biochimiques ( glucose, triglycéride et cholestérol). Il à été décrit que le *Ganoderma* a parfois été étudiée pour ses propriétés hypocholestérolémiantes et hypotensives chez le rat [ 61] et le lapin [62], mais pas dans des modèles de cholestérol plus physiologiques [63] tels que les mini porcs. *Le ganoderma* peut soi-disant réduire le cholestérol chez l'homme, mais le travail n'a pas été évalué par des pairs ni décrit de manière adéquate [ 64]. Le changement dans le taux de glucose peut être expliquer par le pouvoir du *ganoderma* à restaurer les fonctions du pancréas.

Les résultats de notre étude montrent un effet significatif de *Ganoderma* sur les paramètres hématologiques chez les lapins traités par le *ganoderma* plus le benzène rapport au groupe traité seulement au benzène . ce qui est similaire avec cette étude, qui à constater que l'augmentation du taux d'hémoglobine dans les groupes traités peut être due à un effet antioxydant fort de *Ganoderma lucidum* qui empêchent la destruction des GB de formation de radicaux libres [65, 66]. Cet effet hématopoïétique de *Ganoderma lucidum* peut être due aux propriétés antioxydants de ses constituants. *Ganoderma lucidum* peut augmenter l'activité des enzymes antioxydants chez la souris si des triterpènes de *Ganoderma lucidum* doivent être administrés à des souris. Il existe une augmentation extrêmement significative du nombre de leucocytes dans les deux groupes traités au *ganoderma* et cet effet est dû à la présence de polysaccharides [67]. Cependant, cette augmentation du nombre de leucocytes montre que cet extrait a un effet immunomodulateur qui peut stimuler le système immunitaire des rongeurs en



augmentant la production de GB [68] dans l'étude actuelle, le niveaux de testostérone sérique chez les lapins traités au Ganoderma plus benzene ont été significativement augmentés par rapport aux groupe traité uniquement au benzène, ce qui indique que le ganodermaa peut favoriser la sécrétion de testostérone. Comme la testostérone est sécrétée par les testicules [69], cela indique en outre que le ganoderma peut favoriser l'augmentation de la sécrétion de testostérone par le maintien de la morphologie et de la fonction testiculaire.



***Conclusion et  
perspective***

## **Conclusion et perspective**

Après une durée de quatre semaines d'exposition des lapins au solvant (benzène) et au solvant plus le ganoderma nous résultats ont confirmés que le benzène est un solvant toxique qui provoque une altération des paramètres biochimiques (cholestérol, triglycéride et glucose), hématologiques et une altération histologique du foie. Ainsi qu'un effet négatif sur la reproduction qui se traduit par une diminution du têt de la testostérone. L'étude hormonale montre une diminution du taux de testostérone.

D'après nous résultats nous avons confirmé les bienfaits du champignon reishi sur les paramètres biochimiques, hématologiques et hormonales ce qui a diminué l'effet négatif du benzène.

## **Perspective**

Des règles de sécurité doivent être établies et respectées :

- On aimera bien dans le futur refaire notre travail avec des changements dans la méthode de traitement (la durée du traitement, la voie d'exposition et avec différentes doses) cela pour confirmer notre travail.
- Pour bien montrer les effets toxiques du benzène sur la reproduction on aimera bien faire le dosage du glutathion dans les testicules et l'épididyme ainsi que le dosage des hormones (FSH et LH).
- On fin on vous conseil de consommer les produits naturels tel que le reishi comme un compliment alimentaire pour limiter les effets nocifs des solvants surtout qu'on est exposés à eux dans notre quotidien d'une façon direct ou indirect.



***Références bibliographiques***

- [1] B.-H. Cheung, S.-W. Chen, K.-W. Chan, C.-H. Zheng, P. M. Lu, J. Z. Duan, W.-W. Zhao - Anti-inflammatory activities of *Ganoderma lucidum* (Lingzhi) and San-Miao-San supplements in MRL/lpr mice for the treatment of systemic lupus erythematosus - *Journal of Functional Foods*, 2019, 52, 660-670.
- [2] DEOUX Suzanne, *Bâtir pour la santé des enfants*, Medieco Editions, 2010 .
- [3] B. Yu, J. Lu, H. Zhai, X. Fan, Z. Zhang - *Ganoderma lucidum* polysaccharide Bcl-2 protein expression and cell apoptosis in prostate cancer cells - *Genetics and Molecular Research*, 2015, 14(3), 8332-8341.
- [4] C.C. Lin, T.H. Yu, S.H. Shih, T.J. Liu, P.Y. Wei - The antioxidant and free radical scavenging activities of *Ganoderma lucidum* - *Pharmaceutical Biology*, 2009, 47(5), 410-417.
- [5] C. Chen, Z. Liao, L. Xu, J. Wang, J. Dai - *Ganoderma lucidum* polysaccharides encapsulated in hydrogel microspheres as a composite scaffold for cartilage tissue engineering - *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2012, 23(10), 2459-2469.
- [6] C. Lull, A. Wichers, R.R. Savelkoul - Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites - *Mediators of Inflammation*, 2005, 2005(2), 63-80.
- [7] C.Y. Lin, J.C. Hsu, C.C. Chiang, Y.J. Huang, C.C. Li, K.Y. Hsu - The mediation of apoptosis and collagen synthesis by *Ganoderma lucidum* polysaccharides in alcohol-induced liver injury - *The American Journal of Chinese Medicine*, 2007, 35(5), 785-794.
- [8] D. Li, Y. Hu, L. Chen, P. Zhu, W. Shen, W. Zhang, H. Zhou - Anti-tumor effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide - *Acta Pharmacologica Sinica*, 2004, 25(6), 833-838.
- [9] G. Zeng, X. Huang, L. Liao, W. Zhou, J. Huang - Study on the antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides - *Proceedings of the 5th World Congress on Biotechnology*, 2004, 23-27.
- [10] H. Ji, H. Zhang, W. Li, H. Wei - Two-stage liquid fermentation of *Ganoderma lucidum* and antioxidant activity of the fermentation products - *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2013, 171(6), 1376-1386.
- [11] H. Lindequist, T. J. R. Niedermeyer, W.-D. Jülich - The pharmacological potential of mushrooms - *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2005, 2(3), 285-299.
- [12] H. Xu, S. Fei, Y. Qiu, C. Shao, S. Wang, Y. Zhang, Z. Qi, S. Zhang, Y. Li - *Ganoderma lucidum* polysaccharide inhibits prostate cancer cell migration via the protein arginine methyltransferase 6 signaling pathway - *Oncology Letters*, 2018, 15(2), 2109-2114.
- [13] H.-L. Chen, C.-H. Huang, C.-K. Kuang, C.-H. Lee, C.-H. Chuang - *Ganoderma lucidum* polysaccharides reduce lipid peroxidation in the liver of exercise-trained rats - *Journal of Food and Drug Analysis*, 2017, 25(1), 188-197.

- [14] J. Chiu, T. Leung, L. Cheng, C. Chow, Y. Tsui, Y. Wang, Y. Chang, P. Chiu - Immunomodulatory activities of Ganoderma sinense polysaccharides in human immune cells - *Nutritional Journal*, 2014, 13, 55.
- [15] J. Lee, J.H. Park, J. Jung, H. Kim, J. Park, H. Lee, J. Jeon, H. Kim - Ganoderma lucidum extract protects DNA from strand breakage caused by hydroxyl radical and UV irradiation - *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2009, 11(2), 175-184.
- [16] J. Li, Q. Wang, H. Wang, X. Wei - Antitumor and immunomodulatory activities of Ganoderma lucidum polysaccharides in glioma-bearing rats - *Integrative Cancer Therapies*, 2018, 17(3), 674-683.
- [17] J. Lin, X. Zhang, Z. Cao, C. Zhang, X. Chen, X. Chen, X. Zhong - The immunomodulatory effect of Ganoderma lucidum polysaccharides-loaded calcium phosphate scaffolds on the function of dendritic cells - *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2014, 102(10), 3652-3663.
- [18] K.-W. Lai, Y.-L. Cheung, C.-W. Cheung, N.-P. Ngai, A.-S. Fung, P.-Y. Yu, P.-S. Lau, S.-C. Ko, P.-M. Leung, J.-K. Lau - Ganoderma extract activates MAP kinases and induces the neuronal differentiation of rat pheochromocytoma PC12 cells - *FEBS Letters*, 2008, 582(5), 747-754.
- [19] K. M. Abdulla, S. H. Abu Hassan, F. S. S. Abdullah, A. H. Sabaratnam - Ganoderma lucidum polysaccharides improve insulin sensitivity by regulating inflammatory cytokines and gut microbiota composition in mice - *Journal of Functional Foods*, 2018, 41, 223-232.
- [20] L. Wang, B. Yin, Y. Zhang, Y. Liu, W. Gao, Y. Shao, Y. Huang, Y. Yan, L. Zhang, Y. Liu - Ganoderma lucidum polysaccharide prevents sepsis-induced acute kidney injury via the JAK2/STAT3 signaling pathway - *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 13(5), 2659-2666.
- [21] M. Zhou, X. Li, J. Liu, M. Zhang, Z. Zhang, H. Qiao, L. Zhang, F. Liu, X. Wang - Ganoderma lucidum polysaccharides protect against MPP<sup>+</sup>-induced oxidative stress via apoptosis and autophagy in in vitro and in vivo models of Parkinson's disease - *Neurochemical Research*, 2017, 42(6), 1733-1743.
- [22] N.-N. Jiang, Y.-J. Jin, C.-H. Huang, M.-Y. Chen, Y.-H. Chen, K.-C. Lin, H.-I. Liao, C.-C. Chen, P.-H. Huang, C.-H. Kao, C.-K. Sun, H.-C. Hsieh - Ganoderma lucidum polysaccharides reduce lipid peroxidation in patients with type 2 diabetes mellitus - *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2018, 63(3), 225-231.
- [23] P.-T. Chiu, S.-T. Leung, W.-P. Wong, Y.-M. Cheng, P.-K. Tsui, L.-Y. Lam, J. P. Goggins - Immunomodulatory effect of Ganoderma lucidum extract on the Th1/Th2 balance in normozoospermic males - *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 2005, 11(5), 797-803.

- [24] R. Yeh, R. Lee, Y. Su, H. Huang - Immunomodulatory and adjuvant effects of a polysaccharide extract of *Ganoderma lucidum* in vivo and in vitro - *Vaccine*, 2009, 27(43), 5917-5920.
- [25] S. Kim, S.-B. Ahn, J. Lee, Y. Kim, S. Sung, H. Baek, S. Lee, C. Lee, Y. Kim - Immunomodulatory effect of the water extract of *Ganoderma lucidum* on cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice - *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, 149(1), 576-584.
- [26] S. Li, T. Nie, X. Zhang, Q. Wang, X. Li, M. Qiu, J. Wang, X. Lin - The antiaging effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide - *Journal of Functional Foods*, 2019, 54, 165-172.
- [27] S. Liu, X. Wu, L. Wang, C. Wei - Study on the immunomodulating and antitumor activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi) polysaccharides - *Journal of Food Science*, 2010, 75(1), H7-H13.
- [28] S. Ren, J. Zhang, F. Chen, Y. Liu, H. Xu, S. Liu - Structure elucidation and immunostimulatory activity of a new polysaccharide from *Ganoderma lucidum* - *Carbohydrate Polymers*, 2014, 114, 127-134.
- [29] S.-B. Park, C.-S. Lee, J.-H. Lee, H.-K. Kim, Y.-J. Moon - Anti-Inflammatory Effects of a Benzene Extract from Cultured Mycelia of *Ganoderma lucidum* - *Phytotherapy Research*, 2007, 21(10), 1053-1056.
- [30] S.-J. Lee, H.-R. Cho, J.-B. Kang, H.-S. Lee, Y.-H. Byun, M.-C. Jeon, K.-D. Kim, J.-D. Kim - Immunomodulatory effect of *Ganoderma lucidum* extract on the response to collagen type II in primary culture of rabbit articular chondrocytes - *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2018, 15(1), 353-361.
- [31] T. G. Le, H. T. Duong, L. C. Pham, T. T. Tran, P. T. Phan, N. B. Dang - *Ganoderma lucidum* inhibits proliferation of human breast cancer cells by down-regulation of estrogen receptor and NF- $\kappa$ B signaling - *Integrative Cancer Therapies*, 2020, 19, 1534735420964481.
- [32] T. Li, Y. Wang, L. Liu, X. Li, X. Zhang, H. Cao, S. Wang - Immunomodulatory and anticancer activities of phenolics from *Garcinia mangostana* fruit pericarp - *Food and Function*, 2018, 9(8), 4106-4118.
- [33] W. Chen, P. Cai, B. Luo, X. Liu, Y. Li, Q. Fu, X. He - *Ganoderma lucidum* polysaccharides encapsulated in liposome as an adjuvant to promote Th1-biased immune response - *Carbohydrate Polymers*, 2019, 225, 115248.
- [34] W. Fan, M. Qian, G. Zhang, J. Zeng, Y. Shi, Q. Wang, X. Liu, C. Wan - Protective effects of *Ganoderma lucidum* spore on cadmium-induced cytotoxicity in IEC-6 cells - *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 14(6), 5589-5596.
- [35] X. Li, X. Xu, J. Zhang, Q. Zhang, Z. Zhang, L. Xiao, Y. Liu, Q. Lai, J. Xiao, D. Chen - *Ganoderma lucidum* polysaccharides protect fibroblasts against UVB-induced photoaging - *Molecular Medicine Reports*, 2016, 14(2), 1609-1614.

- [36] X. Wang, Y. Zhang, H. Yang, Y. Wang - Potential anti-tumor activity of a novel ganoderic acid derivative in vitro and in vivo - *Molecular Medicine Reports*, 2013, 7(4), 1267-1272.
- [37] X.-L. Ding, R.-M. Li, X. He, Z.-H. Wang - Ganoderma lucidum polysaccharides: immunomodulation and potential anti-tumor activities - *American Journal of Chinese Medicine*, 2011, 39(1), 15-27.
- [38] Y. Gao, W. Zhou, G. Xie, M. Li, L. Lou, B. Su, D. Zhao, H. Qiu, W. Gao - Oral administration of Lingzhi-8 protein suppresses the incidence and multiplicity of tumors in mice - *Nutrition and Cancer*, 2004, 49(2), 214-219.
- [39] Y. Liu, L. Fukuwatari, M. Okumura, M. Takeda, K. Ishibashi - Confirmation of the anti-obesity effect of quercetin in high-fat diet-induced obese mice by repeated administration - *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2013, 59(6), 540-546.
- [40] Y.-H. He, M.-X. Liu, J.-J. Xie, C.-J. Liu, T.-D. He - Immunomodulatory activities of a fungal protein extracted from Ganoderma lucidum - *Food and Agricultural Immunology*, 2010, 21(3), 249-261.
- [41] Z. Jiao, W. Li, Y. Feng, Y. Xu, H. Zhang - Immunomodulatory activity of Ganoderma lucidum polysaccharides liposomes in mice - *Carbohydrate Polymers*, 2016, 148, 135-143.
- [42] Irons rd, gross s. leukemia and benzene. *clin occup environ med* 2002 ; 2 : 841-53.
- [43] J.E. Andrews, K.D. Courtney, A.G. Stead, W.E. Donaldson  
Hexachlorobenzene-induced hyperparathyroidism and osteosclerosis in rats  
*Fundam. Appl. Toxicol.*, 12 (1989), pp. 242-251
- [44] J.E. Andrews, K.D. Courtney, W.E. Donaldson  
Impairment of calcium homeostasis by hexachlorobenzene (HCB) exposure in Fischer 344 rats  
*J. Toxicol. Environ. Health*, 23 (1988), pp. 311-320
- [45] J.E. Andrews, L.D. Jackson, A.G. Stead, W.E. Donaldson  
Morphometric analysis of osteosclerotic bone resulting from hexachlorobenzene exposure  
*J. Toxicol. Environ. Health*, 31 (1990), pp. 193-201
- [46] J.G. Vos, H.L. van der Maas, A. Musch, E. Ram  
Toxicity of hexachlorobenzene in Japanese quail with special reference to porphyria, liver damage, reproduction and tissue residues  
*Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 18 (1971), pp. 944-957
- [47] P.F. Botterweg, J. Strik, J.H. Koeman  
Experimental studies with HCB in birds  
*TNO-Nieuws*, 27 (1972), pp. 599-603
- [48] Benzène. European Union Risk Assessment Report. European Chemicals Bureau, draft ; 2003 (esis.jrc.ec.europa.eu).



[49] Smith GS, Hall RL, Walker RM. Applied Clinical Pathology in Preclinical Toxicology Testing. In: Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA. Handbook of toxicologic pathology. 2nd Edition. USA: Elsevier. 2002; 1: 123-156p

[50]Ukolova AI, Kessenikha ED, Radilova AS, Goncharo NV. Toxicometabolomics: Identification of markers of chronic exposure to low doses of aliphatic hydrocarbons. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. 2017; 53(1): 25-36.

[51] Husmann DS, Mephaul MJ. Time specific androgen blockage with flutamide in inhibit testicular descent in the rat. Endocrinol, 1991; 129:1409-1416

[52] Wang, B., et al., 2022. Let-7e-5p, a promising novel biomarker for benzene toxicity, is involved in benzene-induced hematopoietic toxicity through targeting caspase-3 and p21. Ecotoxicol. Environ. Saf. 246, 114142 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114142>

Huang, J., et al., 2022. High expression of HIF-1 $\alpha$  alleviates benzene-induced hematopoietic toxicity and immunosuppression in mice. Environ. Pollut. 311, 119928 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119928>.

Yamei Qiao <sup>a 1</sup>, Hui Hu <sup>a b 1</sup>, Yunyan Zhao <sup>a</sup>, Min Jin <sup>a</sup>, Dong Yang <sup>a</sup>, Jing Yin <sup>a</sup>, Peng Wu <sup>c</sup>, Weili Liu <sup>a</sup>, Junwen Li Benzene induces spleen injury through the B cell receptor signaling pathway. Ecotoxicology and Environmental Safety ., 2023 ;257

[53] Sun, R., et al., 2016. Benzene exposure alters expression of enzymes involved in fatty acid  $\beta$ -oxidation in male C3H/He mice. Int. J. Environ. Res. Public Health 13 (11). <https://doi.org/10.3390/ijerph13111068>.

Sun, R., et al., 2020. Benzene exposure induces gut microbiota dysbiosis and metabolic disorder in mice. Sci. Total Environ. 705, 135879 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135879>.

[54] Chen H, Wang Xet Xu L - Effects of exposure to low-level benzene and its analogues on reproductive hormone secretion in female workers. Chin. J.Prev. Med., 2001 ; 35, 2 : 83-86.

- [55] S.C. Jong, J.M. Birmingham, 1992. Medicinal Benefits of the Mushroom Ganoderma. ELS EVIER.  
37 :101 [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70253-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70253-3)
- [56] Li, T.H., Hu, H.P., Deng, W.Q., Wu, S.H., Wang, D.M. and Tsering, T. (2014) *Ganoderma leucocontextum*, a new member of the *G. lucidum* complex from Southwestern China. *Mycoscience*, 56(1): 81-85. 18.
- [57] Xiao, J., Liang, E.C., Ching, Y.P., Chang, R.C.C., So, K.F., Fung, M.L. and Tipoe, G.L. (2012) *Lycium barbarum* polysaccharides protect mice liver from carbo
- [58] Xiong, F. and Guan, Y.S. (2017) Cautiously using natural medicine to treat liver problems. *World J. Gastroenterol.*, 23(19): 3388-3395.
- [59] Chiu HF, Fu HY, Lu YY, Han YC, Shen YC, Venkatakrishnan K, Golovinskaia O, Wang CK. Triterpenoids and polysaccharide peptides-enriched *Ganoderma lucidum*: a randomized, double-blind placebo-controlled crossover study of its antioxidation and hepatoprotective efficacy in healthy volunteers. *Pharm Biol.* 2017 Dec;55(1):1041-1046.
- [60] Kabir Y, Kimura S, Tamura T. Effet diététique du champignon *Ganoderma lucidum* sur la pression artérielle et les taux de lipides chez des rats spontanément hypertendus (SHR) *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1988; 34 : 433–438. Kabir Y, Kimura S, Tamura T. Effet diététique du champignon *Ganoderma lucidum* sur la pression artérielle et les taux de lipides chez des rats spontanément hypertendus (SHR) *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 1988; 34 : 433–438.
- [61] .Lee SY, Rhee HM. Effets cardiovasculaires de l'extrait de mycélium de *Ganoderma lucidum* : inhibition de l'écoulement sympathique comme mécanisme de son action hypotensive. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1990 ; 38 :1359–1364.
- [62] Rein D, Monnard I, German JB, Berger A. Dépistage de l'absorption et de la synthèse du cholestérol inhibant les ingrédients alimentaires dans les modèles de hamster. *FASEB J.* 2000;14 :A250.
- [63] Sun-Soo T. Dosage efficace de l'extrait de *Ganoderma lucidum* dans le traitement de diverses affections. Dans : Royse DJ, monteur. *Biologie des champignons et produits à base de champignons*. University Park, Pennsylvanie : Université d'État de Pennsylvanie ; 1996d immunoregulatory activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharide (GLP).” *Carbohydrate Polymers*, Vol. 95, No. 1, 2013, pp. 200-06.

- [64] Nwinuka, Nwibani M., Michael O. Monanu, and Barine I. Nwiloh. "Effects of aqueous extract of *Mangifera indica* L.(mango) stem bark on haematological parameters of normal albino rats." *Pakistan Journal of Nutrition*, Vol. 7, No. 5, 2008, pp. 663-66
- [65] Halliwell, Barry. "Antioxidants in human health and disease." *Annual Review of Nutrition*, Vol. 16, No. 1, 1996, pp. 33-50.
- [66] Shi, Min, Zhenya Zhang, and Yingnan Yang. "Antioxidant and immunoregulatory activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharide (GLP)." *Carbohydrate Polymers*, Vol. 95, No. 1, 2013, pp. 200-06.
- [67] John, Ogbe Raphael, Adenkola Adeshina Yahaya, and Anefu Emmanuel. "Aqueous ethanolic extract of *Mangifera indica* stem bark effect on the biochemical and haematological parameters of albino rats." *Archives of Applied Science Research*, Vol. 4, No. 4, 2012, pp. 1618-22
- [68] Bassas Arnau, L. Exploration de la fonction testiculaire. *Endocrinol. Nutr.* 2009 , 56 , 18–31.
- [69] Truhaut R - Compte rendu et résolutions finales du « Workshop » international sur la toxicologie du benzène. *Arch. Mal. Prof.* , 1977 ; 38 : 967-968.